



Relação entre a viscosidade *in vivo* e *in vitro* de alimentos à base de cevada para frangos de carne

Cláudia Filipa Marto Carreira

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Zootécnica – Produção Animal

Orientador: Doutora Maria Madalena dos Santos Lordelo

Júri:

Presidente: Doutor Carlos Mendes Godinho Andrade Fontes – Professor Associado da
Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa

Vogais: Doutora Luísa Almeida Lima Falcão e Cunha – Professora Associada do Instituto
Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Doutora Maria Madalena dos Santos Lordelo – Professora Auxiliar do Instituto
Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Lisboa, 2011

AGRADECIMENTOS

Em primeira instância quero agradecer à Professora Doutora Madalena Lordelo, minha orientadora, o apoio e ajuda prestados ao longo de todo o trabalho. Aqui deixo a minha maior estima e gratidão.

Ao Eng.º Bruno Correia, por toda a disponibilidade demonstrada e por toda a ajuda que me deu desde a preparação até à finalização do trabalho.

À D. Lúcia Fortes, funcionária do Laboratório Pais de Azevedo do Instituto Superior de Agronomia, por toda a paciência e dedicação no ensinamento de algumas técnicas de laboratório; e ao Sr. Paixão pela ajuda incansável durante o ensaio experimental.

Aos meus colegas de curso, por toda a amizade; especialmente àqueles que tantas vezes me acompanharam e companhia fizeram durante o ensaio experimental.

Por fim, aos meus pais, à minha irmã, aos meus restantes familiares, aos meus amigos de longa data e ao Bruno Santos...um obrigado por todo o apoio, paciência e compreensão.

“A mente que se abre a uma nova ideia jamais voltará ao seu tamanho original”

Albert Einstein

RESUMO

A cevada é uma fonte de energia utilizada nas dietas de frangos mas a presença de Polissacáridos Não-Amiláceos (β -glucanos) aumentam a viscosidade dos conteúdos digestivos, o que tem consequências negativas na digestibilidade dos nutrientes. Estudos realizados referem que a suplementação de dietas com β -glucanase reduz a viscosidade intestinal e melhoram os parâmetros zootécnicos. Assim, pretende-se avaliar as causas e efeitos do aumento da viscosidade *in vivo* e prever essa viscosidade a partir da viscosidade *in vitro*. Utilizaram-se 7 tratamentos (0, 18S, 36S, 54S, 18C, 36C e 54S), com 5 réplicas cada e 140 frangos machos Ross 308. Os tratamentos diferiam entre si pela percentagem de cevada incorporada e presença ou não de enzimas. Os resultados mostraram melhorias no Peso Vivo, Ingestão de Alimento, Índice de Conversão e dimensão dos órgãos do sistema digestivo quando adicionadas enzimas na dieta. A viscosidade *in vivo* também diminuiu nas dietas com enzimas, sobretudo no íleo. Não foi possível prever com um coeficiente de determinação forte a viscosidade *in vivo* a partir da *in vitro*. Concluiu-se que enzimas nas dietas diminuem os efeitos negativos da cevada nos frangos. Sugere-se por isso um estudo de previsão da viscosidade *in vivo* a partir da *in vitro* com uma maior amostragem de animais.

Palavras-Chave: Cevada; β -glucanos; Enzimas; Performance dos frangos; Viscosidade intestinal

ABSTRACT

Barley is an energy source used in the diets of broilers but the presence of non-starch polysaccharides (β -glucan) increase the viscosity of the digestive contents which has a negative effect on nutrient digestibility. Studies revealed that supplementation of diets with β -glucanase reduces intestinal viscosity and improves animal performance. Thus, we intend to evaluate the causes and effects of the increased viscosity *in vivo* and predict from the viscosity *in vitro*. We used 7 treatments (0, 18S, 36S, 54S, 18C, 36C e 54S) with 5 replicates each and 140 male Ross 308 broilers. Treatments differed by the percentage of barley and presence or absence of enzymes. The results showed improvements in body weight, food intake, feed:gain ratio, weight and length of the organs of the digestive system added enzymes were added into the diet. The viscosity *in vivo* also decreased in diet supplemented with enzymes, especially in the ileum. It was not possible to predict with a strong determination coefficient the viscosity *in vivo* from *in vitro*. It concluded that enzymes in the diet decrease the negative effects of barley incorporation in broiler diets. It is suggested that a prediction of viscosity *in vivo* from *in vitro* requires with a larger sample of animals.

Key Words: Barley, β -Glucans, Enzymes, Broilers performance, Intestinal viscosity

EXTENDED ABSTRACT

Feed is a major production factor of the poultry industry and carries the highest costs of production. Maize and soya meal are arguably the most common ingredients in broiler diets worldwide, but other ingredients may be used as alternatives for replacement of corn, as is the case of wheat and barley.

Barley (*Hordeum vulgare*) is an important cereal, which is currently used to produce malt, food and animal feed. The nutritional value of barley is lower than maize. However, barley has a higher level of protein than corn and its amino acid balance is better than that of wheat.

The reticence in the use of barley is related to management problems that it may arise, particularly slimy faeces and wet beds, due to the presence of anti-nutritional factors (ANF) mainly non-starch polysaccharides (NSP). The most common NSP of barley grains, the β -glucans, were reported by various investigators as the cause of an increased intestinal viscosity and consequently of a lower performance of birds. However, the use of barley as alternative ingredient may be important in areas with shortages of other grains such as corn or wheat. Increased intestinal viscosity by feeding diets with viscous cereal is a common cause of low performance and intestinal problems. However, studies indicated that supplementation of diets with β -glucanase reduces viscosity and improves animal performance.

The present study aims to assess the causes and effects of the increased viscosity *in vivo* caused by the use of barley and predict the *in vivo* viscosity from the viscosity *in vitro*, we aim to predict the reaction of the organism before a certain percentage of barley with or without the use of enzymes are used in diets.

To test the hypothesis described above 7 treatments (0, 18S, 36S, 54S, 18C, 36C, 54C), with 5 replicates each and 140 male Ross 308 broilers were used. The 0 treatment did not contain barley or enzyme complex; this was a control group. The 18S treatment consisted of 18% barley, 36S contained 36% barley and 54S contained 54% barley, these three treatments were free of enzyme complex. Three batches were made equal to the previous assignments with the 18C, 36C and 54C, but in this enzyme complex Rovabio™Excel was added.

During feed manufacture, samples were collected from all treatments (with and without enzyme) and barley used for subsequent measurement of *in vitro* viscosity. Throughout the experiment body weight, feed intake and gain:feed ratio were measured. At slaughter the internal organs of the digestive tract (gizzard, liver, duodenum, jejunum, ileum, pancreas, and cecum) were weighed and measured, and the digestive contents of the duodenum + jejunum

and ileum are removed. After the slaughter, intestinal viscosity was determined *in vivo* using a Brookfield Cone and Plate viscometer LVCDVII.

Statistical analysis was performed using the method of analysis of variance according to the *General Linear Model* procedure of SAS. We used the Duncan test of the SAS statistical program to analyze the differences between means of each parameter measured and was considered significant when $P < 0.05$. The same program was used for regression analysis of the data, considering significant values with $P < 0.15$.

In the present study it was possible to prove that the application of enzymes in barley-based diets improved all the analyzed animal production parameters (body weight, feed intake and gain:feed ratio) and decreased viscosity of the intestinal compartments.

Therefore the manufacture of bird's feed using barley is possible as long as enzymes able to degrade the β -glucan are incorporated in diets.

Under the conditions of this study, the viscosity *in vitro* may be used to predict the viscosity *in vivo*, as verified by the correlation analysis that there is a trend in direct proportion between the two variables.

ÍNDICE

RESUMO	IV
ABSTRACT	V
EXTENDED ABSTRACT	VI
ÍNDICE DE QUADROS	X
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
LISTA DE ABREVIATURAS	XIII
I. INTRODUÇÃO	1
II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
1. Frangos de Carne	4
1.1. Sistema Digestivo: Anatomia do Intestino Delgado e Intestino Grosso	4
1.2. Requisitos Ambientais e Nutricionais	7
2. Cevada	9
2.1. Produção de Cevada em Portugal e no Mundo	10
2.2. Composição Nutricional	12
2.3. Efeitos no sistema digestivo influenciados pela variação de Factores Anti-Nutricionais	12
2.4. Polissacáridos Não-Amiláceos da Cevada	13
2.5. Diversidade das fontes e características dos β -Glucanos	14
3. Enzimas	16
3.1. Definição e acção enzimática	16
3.2. Carbohidrases	17
4. Viscosidade	18
4.1. Factores que afectam a viscosidade	19
4.2. Efeitos da alteração da viscosidade intestinal	20
4.3. Relação da utilização de cevada com a viscosidade	21
4.4. Desenvolvimento dos componentes digestivos com a variação da viscosidade	22
4.5. Viscosidade como factor que afecta a performance e a saúde intestinal	24
4.6. Métodos de determinação da viscosidade	26
III. OBJECTIVOS	28
IV. MATERIAIS E MÉTODOS	29
1. Instalações e Animais	29
2. Alimento Utilizado e Tratamentos	30

3. Análises	34
4. Análise Estatística	34
V. RESULTADOS	35
1. Viscosidade da Ração (<i>in vitro</i>)	35
2. Parâmetros Zootécnicos	35
3. Viscosidade dos conteúdos digestivos (<i>in vivo</i>)	37
4. Dimensões dos órgãos do sistema digestivo	38
VI. DISCUSSÃO	45
VII. CONCLUSÃO	51
VIII. BIBLIOGRAFIA E REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

ÍNDICE DE QUADROS

QUADRO 1. Energia a fornecer através do alimento para obtenção de frangos de carne com peso entre 1,2 a 1,9 Kg ao abate _____	8
QUADRO 2. Produção de cevada na Europa e no Mundo _____	11
QUADRO 3. Factores que afectam a viscosidade intestinal _____	20
QUADRO 4. Composição física e química calculada das dietas fornecidas ao longo dos 28 dias de ensaio _____	31
QUADRO 5. Composição química analisada em laboratório das dietas fornecidas ao longo dos 28 dias de ensaio _____	31
QUADRO 6. Grupos enzimáticos presentes no Rovabio™ Excel _____	32
QUADRO 7. Resultados obtidos para viscosidade <i>in vitro</i> _____	35
QUADRO 8. Efeito da aplicação dos diferentes tratamentos aplicados durante o ensaio experimental no peso vivo, ingestão de alimento e no índice de conversão das aves _____	36
QUADRO 9. Efeito da aplicação de diferentes níveis de cevada, com ou sem utilização de enzima β -glucanase na viscosidade dos conteúdos digestivos, mensurados em diferentes compartimentos do intestino delgado (em <i>centipoise</i> – cPo) _____	37
QUADRO 10. Efeito da utilização de diferentes percentagens de cevada, com ou sem utilização de enzima, nas dimensões dos órgãos do sistema digestivo _____	39

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Órgãos do sistema digestivo de um frango _____	6
FIGURA 2. Espigas de cevada (Esquerda: variedade dística; Direita: variedade hexástica) _____	10
FIGURA 3. Produção de cevada de 1999 a 2009 em Portugal _____	11
FIGURA 4. Estrutura de β -D-Glucopirranose _____	14
FIGURA 5. Estrutura de um β -glucano _____	15
FIGURA 6. Mecanismo de acção enzimático _____	16
FIGURA 7. Mecanismo de acção uma carbohidrase _____	17
FIGURA 8. Modo de acção dos PNA's e das enzimas que os degradam _____	19
FIGURA 9. Resposta do organismo dos frangos ao aumento de viscosidade intestinal _____	20
FIGURA 10. Vilosidades intestinais, mostrando medições envolvidas na morfometria da mucosa intestinal _____	23
FIGURA 11. Relação entre a taxa digestiva de uma dieta e a densidade de população microbiana _____	25
FIGURA 12. Viscosímetro de cone e placa _____	27
FIGURA 13. Esquema representativo da sala de ensaio com a distribuição dos diferentes tratamentos, pelas 40 gaiolas existentes _____	33
FIGURA 14. Efeito da aplicação de diferentes níveis de cevada, com ou sem utilização de enzima na viscosidade dos conteúdos digestivos, mensurados em diferentes compartimentos do intestino delgado _____	38
FIGURA 15. Efeito da aplicação de cevada e enzimas nas dietas destinadas aos frangos, nas dimensões dos órgãos do sistema digestivo _____	40
FIGURA 16. Relação entre a viscosidade <i>in vitro</i> e a viscosidade <i>in vivo</i> medida nas porções conjuntas duodeno+jejuno em frangos consumindo de dietas sem enzimas _____	41
FIGURA 17. Relação entre a viscosidade <i>in vitro</i> e a viscosidade <i>in vivo</i> medida nas porções conjuntas duodeno+jejuno em frangos consumindo de dietas com enzimas _____	41
FIGURA 18. Relação entre a viscosidade <i>in vitro</i> e a viscosidade <i>in vivo</i> medida na porção íleo em frangos consumindo dietas sem enzimas _____	42
FIGURA 19. Relação entre a viscosidade <i>in vitro</i> e a viscosidade <i>in vivo</i> medida na porção íleo em frangos consumindo dietas com enzimas _____	42
FIGURA 20. Relação entre as variáveis tratamento e a viscosidade <i>in vivo</i> nas porções duodeno+jejuno sem adição de enzimas _____	43
FIGURA 21. Relação entre as variáveis tratamento e a viscosidade <i>in vivo</i> nas porções duodeno+jejuno com adição de enzimas _____	43

FIGURA 22. Relação entre as variáveis tratamento e a viscosidade *in vivo* na porção íleo sem
adição de enzimas _____ 44

FIGURA 23. Relação entre as variáveis tratamento e a viscosidade *in vivo* na porção íleo com
adição de enzimas _____ 44

LISTA DE ABREVIATURAS

[s.d.] - Sem data

Ca/P - Rácio de Cálcio e Fósforo

cPo - *Centipoise*

DAP - Dermatite da Almofada Plantar

EM/Ave - Energia Metabolizável por Ave

EMA - Energia Metabolizável Aparente

ENA - Extractivos Não Azotados

FAN - Factores Anti-Nutricionais

IC - Índice de Conversão

Kcal - Quilocalorias

PNA - Polissacáridos Não-Amiláceos

I. INTRODUÇÃO

A produção de carne de frango e de ovos têm mostrado considerável ascensão em todo o mundo desde 1970. O volume de comércio avícola tem aumentado paralelamente ao crescimento global da produção de carne de aves e ovos. Alguns dados avaliados pelo autor WINHORST (2006) indicaram que a indústria da produção de carne de aves tem sido mais dinâmica comparada com a indústria de produção de ovos ao longo dos últimos anos. A implementação da directiva da União Europeia 1999/74 tem tido um impacto negativo na produção e comércio de ovos fazendo com que haja um abrandamento na produção de ovos na União Europeia, sendo esta forçada a recorrer à importação.

Na indústria avícola, a alimentação é o componente de maior importância e que acarreta os maiores custos de produção. O milho e o bagaço de soja são indiscutivelmente os ingredientes mais comuns nas dietas de frangos de carne a nível mundial. Contudo, outros ingredientes poderão ser utilizados como alternativos para substituição de milho, como é o exemplo do trigo e da cevada. A investigação no sentido de conhecimentos mais aprofundados e concretos de alguns ingredientes alternativos poderá fornecer à indústria de alimentos para animais novas opções.

A cevada (*Hordeum vulgare*) é um cereal importante, que tem como finalidade a produção de malte, alimentação humana e a alimentação animal. Em Portugal a maioria da produção é destinada à indústria da cerveja (cevada dística-2 grãos por fileira na espiga). No entanto, uma pequena parte da produção nacional é do tipo hexástica (6 grãos por fileira na espiga). Esta não é utilizada para maltagem mas sim utilizada no fabrico de alimento animal porque tem um teor proteico na ordem dos 10%, contrariamente à cevada utilizada para o fabrico de malte que deverá conter cerca de 11-12% de proteína (MALTIBÉRICA, 2009).

O valor nutricional da cevada é inferior ao do milho. Contudo, a cevada apresenta um melhor nível proteico que o milho e o equilíbrio entre aminoácidos é melhor que o do trigo.

A reticência na utilização de cevada prende-se com os problemas sanitários e de manejo que dela poderão surgir, nomeadamente fezes viscosas e camas molhadas, devido à presença de factores anti-nutricionais (FAN) como são alguns polissacáridos não-amiláceos (PNA). O PNA mais comum dos grãos de cevada são os β -glucanos, estes são apontados por vários investigadores como os causa do aumento de viscosidade dos conteúdos intestinais e consequentemente pelos baixos índices de performance das aves. No entanto, a utilização de

cevada como ingrediente alternativo poderá ser importante em zonas de escassez de outros cereais como o milho ou trigo.

O uso de enzimas na indústria avícola em dietas de alta viscosidade tem sido mais evidente desde a década de 80 apresentando vantagens técnicas e económicas. Tem vantagens segundo BEDFORD (2000), porque aumenta-se o valor nutricional das matérias-primas, reduz-se a variação na qualidade nutricional dos ingredientes e a incidência de fezes viscosas. Estes pontos reflectem-se seguidamente nos resultados zootécnicos de produção de frangos, e a longo prazo poderão conduzir a uma melhoria nos parâmetros económicos pela obtenção de maior quantidade de carne/Kg de frango.

Os efeitos causados pelos PNA da cevada poderão ser reduzidos com a utilização de complexos enzimáticos (principalmente β -glucanases) adicionados às dietas destinadas aos frangos. Estes actuam ao nível da cevada, hidrolisando os β -glucanos para assim reduzirem a viscosidade dos conteúdos digestivos, ao degradarem as partículas dos PNA, permitem um aumento da superfície de actuação das enzimas digestivas, melhorando a digestão e a absorção dos nutrientes. A nível da Europa o uso de enzimas é agora um procedimento quase global.

O aumento da viscosidade intestinal pelo fornecimento de dietas com cereais viscosos é a causa frequente de baixas performances e do surgimento de problemas intestinais nas aves. As populações microbianas que colonizam naturalmente o intestino são maioritariamente substituídas por microrganismos patogénicos devido ao elevado período de retenção dos conteúdos digestivos no intestino, resultando igualmente numa fraca disponibilidade e absorção de nutrientes ao nível intestinal. A humidade das camas com estas condições é uma realidade que no caso de uma produção intensiva de frangos pode constituir um problema de manejo pelas elevadas concentrações de amoníaco que se acumulam, pelo elevado teor de humidade relativa nos pavilhões e pela alcalinidade das camas que causam queimaduras nas almofadas plantares das aves, impedindo a longo prazo o seu deslocamento para ingestão de água e alimento, numa situação mais problemática poderá levar a rejeições aquando o abate.

Com o presente estudo pretende-se prever a viscosidade intestinal *in vivo* a partir da *in vitro* e avaliar-se com maior pormenor quais as consequências ao nível da viscosidade intestinal com a aplicação de cevada em diferentes percentagens nas dietas e com ou sem introdução de complexos enzimáticos, podendo-se assim prever qual a percentagem de cevada nas dietas com e sem enzima que causam o mínimo de efeitos na viscosidade intestinal e performance dos frangos. Ao conhecer-se a viscosidade *in vivo* através da viscosidade *in vitro*, poderá utilizar-se o

método *in vitro* para rapidamente se antecipar se determinado alimento causará efeitos negativos na performance do animal ou não.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Frangos de Carne

O melhoramento e selecção de frangos de carne aliados à produção de dietas a baixo-custo e desenvolvimentos na área das necessidades alimentares; programas de manejo sanitário, manejo alimentar e processamento de alimentos, têm permitido à indústria avícola um grande progresso económico (DIBNER & RICHARDS, 2004).

Com estas melhorias surgiu a utilização de substâncias que possam promover o crescimento, nomeadamente enzimas que têm uma acção nas matérias-primas utilizadas nas dietas animais. A consequente diminuição da viscosidade leva a uma melhor absorção de nutrientes por parte do animal e consequentemente melhor aproveitamento do alimento fornecido.

1.1. Sistema Digestivo: Anatomia do Intestino Delgado e Intestino Grosso

O sistema digestivo das aves tem aspectos únicos relativamente a outros monogástricos. Ingerem os alimentos inteiros, que são armazenados temporariamente no papo e fragmentados na moela. As secreções de pepsina e ácido clorídrico são misturados com os conteúdos digestivos no proventrículo que não tem a função de armazenamento (DIBNER & RICHARDS, 2004).

Existem órgãos adjacentes que são responsáveis por libertar secreções no intestino delgado são o fígado, o pâncreas e a vesícula biliar.

Anatomicamente o intestino é um tubo cujo interior é revestido por um epitélio complexo e diferenciado, revestido por tecido conjuntivo e muscular. O epitélio está diferenciado ao longo do intestino, variando de acordo com a função digestiva nos diferentes segmentos que o compõe. O revestimento exterior, a submucosa, consiste em duas camadas, uma longitudinal mais exterior e outra circular mais interior. Entre as duas camadas existe uma camada muscular onde se encontram vasos sanguíneos, este padrão pode ser observado desde o esófago ao cólon (DIBNER & RICHARDS, 2004).

Quando ocorrem alterações de permeabilidade ao nível da estrutura da mucosa, nomeadamente a escassez de muco lubrificante da mesma, o sistema gastrointestinal das aves deixa de estar protegido, permitindo a agressão do intestino pelo ácido proveniente do estômago e entrada de microrganismos patogénicos e vírus. A composição da dieta pode afectar a estabilidade da mucosa, podendo alterar a susceptibilidade ou a resistência da colonização pelos microrganismos patogénicos (FERNANDEZ, *et al.*, 2000).

Os componentes intestinais permitem conter alimento, suco pancreático, biliar e microflora intestinal. A microflora benéfica para os animais consiste em microrganismos que colonizam o epitélio intestinal, e que variam ao longo do sistema digestivo. A moela também apresenta microflora característica que consiste em *Lactobacillus* e *Enterococcus*, assim como um número reduzido de outras bactérias.

Geralmente, a primeira parte do sistema digestivo é povoado por baixas concentrações de espécies ácido-tolerantes, em contraste com o final do sistema digestivo que exhibe uma grande variedade de organismos, incluindo Coliformes, *Enterococcus* e organismos anaeróbios.

O alimento é uma importante fonte de microrganismos patogénicos que podem ficar retidos no sistema digestivo, nomeadamente no intestino e impedir que organismos desejáveis colonizem o epitélio. Por isto, é claramente importante haver cuidados com o alimento a fornecer às aves, para que este influencie a colonização do epitélio por organismos benéficos.

O intestino delgado é dividido em 3 partes: duodeno, jejuno (intestino delgado proximal) e íleo (intestino delgado distal). O jejuno e o íleo não apresentam diferenças ao nível celular, mas as denominações atribuídas são diferentes para referir o intestino proximal e o distal, divididos pelo divertículo de *Meckel*. Este é importante nos primeiros dias de vida das aves, porque contém restos de gema o que permite a sobrevivência da ave sem necessidade de alimento exterior (DIBNER & RICHARDS, 2004).

O aumento da superfície do intestino delgado permite uma maior área de absorção e disponibiliza um local em que existe uma variedade extensa de enzimas que contribuem para a digestão extracelular dos nutrientes. O mecanismo de absorção dos nutrientes depende em particular das moléculas que os podem transportar. A captação pode ocorrer por difusão ou através de uma variedade de açúcares, aminoácidos, ácidos gordos e outras moléculas transportadoras presentes nas membranas plasmáticas dos enterócitos.

Os três órgãos adjacentes ao sistema digestivo e que contribuem com secreções durante o processo de digestão são o fígado, vesícula biliar e pâncreas. O fígado segrega a biliar, que tem como função emulsionar as gorduras e aumentar o pH do conteúdo digestivo duodenal. A biliar é sintetizada nos hepatócitos e secretada pelo canal biliar, localizado na superfície adjacente às células do fígado. Posteriormente é armazenada na vesícula biliar que drena a biliar aquando a digestão.

O pâncreas é uma glândula que se encontra numa zona de dobra do duodeno, fazendo ligação entre as duas partes da dobra, o pâncreas liberta secreções externas e internas. As secreções externas do pâncreas consistem em enzimas digestivas e electrólitos, libertados no

duodeno por meio de alguns canais pancreáticos. As secreções externas são importantes para reduzir a acidez do quimo, que é essencial para que ocorra actividade enzimática, nomeadamente por parte das enzimas amílase, lipase e protease (DIBNER & RICHARDS, 2004). As enzimas pancreáticas geralmente reduzem os nutrientes com formas extensas e complexas, para formas mais simples, tornando-as solúveis (MORAN, 2006).

A secreção interna realizada pelo pâncreas, inclui a insulina e o glucagon, que têm um papel importante na nutrição como reguladores da necessidade celular de glucose e aminoácidos antes da ingestão.

A ligação íleo-cecal é referida como a terminação do íleo e o início do intestino grosso. A junção neste local permite a ligação com os dois cecos e está aí localizado um importante tecido da imunidade do sistema digestivo, a bolsa de *Fabrizius*. Os cecos são duas bolsas estreitas que contêm microflora anaeróbica responsável pelos processos de fermentação no sistema digestivo das aves. Os organismos Gram-negativos como algumas bactérias são particularmente abundantes nos cecos, não são uma população residente mas povoam o animal através do alimento (JAYNE-WILLIAMS & FULLER, 1971).

O compartimento intestinal termina com o intestino grosso, este é simples e pouco extenso, apresenta ligação com a cloaca, um receptáculo comum para o sistema urinário, digestivo e reprodutivo. A FIGURA 1 ilustra o sistema digestivo de um frango e onde estão representados os órgãos principais.

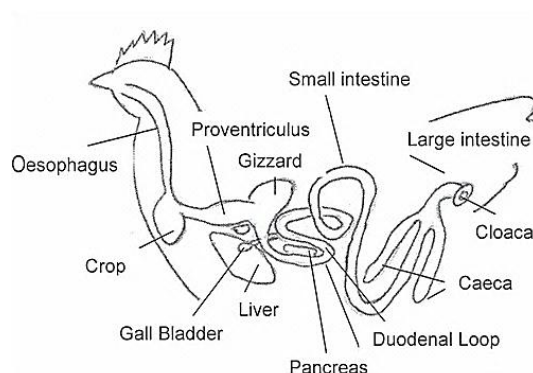


FIGURA 1. Órgãos do sistema digestivo de um frango

Fonte: http://www.dpi.qld.gov.au/27_2705.htm

A idade das aves tem grande influência na estrutura, dinamismo e funções do sistema gastrointestinal e ao longo dos tempos os avanços de selecção permitiram o aumento do peso vivo que foi acompanhado por mudanças da estrutura intestinal, sobretudo melhorias ao nível da sua área de absorção (COOK & BIRD, 1973).

Alguns autores têm apontado que o fornecimento imediato de alimento após a eclosão está associado com pesos vivos superiores dos animais, peso muscular e um rápido desenvolvimento imunitário dos frangos (COOK & BIRD, 1973; DIBNER *et al.*, 1998).

1.2. Requisitos Ambientais e Nutricionais

Para um adequado e eficiente crescimento e desenvolvimento de um frango é necessário que se reúnam algumas condições essenciais para garantir saúde e bem-estar animal. Os factores principais que assim contribuem para a obtenção de frangos saudáveis são: fornecimento de alimento em quantidades adequadas e controladas, um correcto programa de luz, ventilação, densidade populacional, nutrição, temperatura, presença de água sempre constante e um adequado manejo sanitário. Os factores anteriormente descritos são apresentados pelo *BROILER: MANAGEMENT MANUAL* (2009) por forma a obter frangos com elevados padrões de qualidade.

Os grandes objectivos aquando da aplicação de um programa alimentar para frangos, é alcançar pesos vivos, índices de conversão, uniformidade do bando e rendimento em carne. Segundo o *BROILER: MANAGEMENT MANUAL* (2009), as primeiras duas semanas de vida das aves são cruciais e devem merecer particular atenção, pois é nesta fase que ocorre um maior grau de crescimento, o que ao ser comprometido poderá afectar todo o restante crescimento.

A estimulação da ingestão de alimento por parte das aves é possível ser controlada pelo ambiente envolvente onde estão alojados os animais. Inicialmente as aves não têm a capacidade de controlar a sua temperatura corporal, só começando a ocorrer 12 a 14 dias depois, razão pela qual, as salas de alojamento deverão fornecer temperatura suficiente (cerca de 30°C) para que os animais possam colmatar o não controlo de temperatura corporal. A humidade é outro dos factores a ser controlado, a respiração dos animais e os gases libertados por estes através da pele e do sistema respiratório, vão aumentar a humidade relativa do ar, e se houver baixa evaporação, vai originar o aumento de temperatura aparente das aves.

Sendo a ingestão de alimento o factor principal para se obter animais em condições ideais, também as necessidades nutricionais devem ser respeitadas.

Segundo o NRC (1994) a obtenção de frangos com tamanhos adequados ao mercado, depende do adequado fornecimento de alimento. Segundo esta fonte, o peso vivo de frangos machos às 4 semanas de vida, deverá ser de 1 085 g e com um consumo acumulado de alimento de 1 616 g. Por outro lado, pelo manual *ROSS 308 BROILER: PERFORMANCE OBJECTIVES* (2007), para a obtenção de frangos com 4 semanas de idade, o peso vivo objectivo é de 1 505 g, tendo

para isso ingerido 2 170 g de alimento. Muitos estudos sugerem que as necessidades nutricionais dependem da idade e do sexo da ave; frangos machos têm tendência a consumir maior quantidade de alimento relativamente às fêmeas na mesma idade. A necessidade de nutrientes é tendencialmente menos exigente com o aumento da idade.

As necessidades energéticas (QUADRO 1) por parte das aves são essenciais, nomeadamente para crescimento dos tecidos, utilização na actividade física e manutenção da temperatura normal do corpo. A energia é fornecida através da dieta por meio de carboidratos, gorduras e proteínas. A maioria do alimento consumido pela ave é utilizado para produção de energia em reacções de anabolismo e catabolismo. Normalmente as aves conseguem controlar os níveis de energia consumida consoante as suas necessidades quando são confrontadas com dietas ou componentes das dietas que variam a sua concentração energética. A percentagem de energia bruta que um animal pode reter e usar como suporte nos processos metabólicos depende da habilidade que o animal tem para utilizar e digerir os alimentos. Na alimentação de frangos o grande grupo fornecedor de energia são os cereais (LESSON & SUMMERS, 2001).

QUADRO 1. Energia a fornecer através do alimento para obtenção de frangos de carne com peso entre 1,2 a 1,9 Kg ao abate

		Iniciação	Crescimento	Acabamento
Idade	Dias	0-10	11-24	25-Abate
Energia	Kcal/Kg	3025	3150	3200
Metabolizável	MJ/Kg	12,65	13,20	13,40

Fonte: Ross 308: Nutrition Specification (2007)

As necessidades proteicas dos frangos são suportadas normalmente por bagaços (normalmente de soja). Estes componentes complexos são degradados em moléculas mais pequenas, os aminoácidos, durante a digestão. Os aminoácidos são necessários em altas concentrações, pois são prementes para um rápido e sustentável crescimento, já que são os constituintes do tecido muscular, do tecido nervoso, da pele e das penas, um adequado fornecimento de aminoácidos é vital para o sucesso de um programa alimentar (NRC, 1994).

O fornecimento em níveis correctos da maioria dos minerais é importante para a boa performance das aves. Os macro-nutrientes envolvidos são o cálcio, o fósforo, o sódio, o potássio e o cloro. O cálcio na dieta dos frangos influencia o crescimento, a eficiência alimentar, o desenvolvimento ósseo, a boa saúde dos membros, a função nervosa e o sistema imunitário. Tal como o cálcio, o fósforo é necessário para uma correcta forma e qualidade óptima da

estrutura esquelética e do crescimento. O rácio entre Ca/P é importante para impedir problemas de membros nas aves que a longo prazo levam a dificuldade de procura de alimento e água. O sódio, potássio e cloro, são necessários para uma generalidade de funções metabólicas. Baixo nível destes minerais pode afectar a ingestão de alimento, o crescimento e o pH do sangue. Por outro lado, em excesso resultam em aumento de consumo de água e por consequência aumento da humidade das camas (*BROILER: MANAGEMENT MANUAL*, 2009).

Os minerais e vitaminas são necessários para todas as funções metabólicas. A sua suplementação depende dos ingredientes usados na dieta, do processo de fabrico e das circunstâncias locais. Os vários cereais com possibilidade de entrarem numa dieta destinada a frangos de carne podem apresentar diferentes níveis vitamínicos e o nível de suplementação pode ser modificado.

Além de todos os nutrientes a fornecer aos frangos através da dieta, a importância da presença constante de água é um facto premente. Esta deve ser fornecida *ad libitum* e igualmente disponível para todos os animais, deve ser isenta de organismos patogénicos, potável e com um nível controlado de minerais. A baixa ou nula disponibilidade de água pode comprometer por completo a performance dos frangos.

2. Cevada

A cevada (género: *Hordeum*) é um cereal da família das gramíneas. O género *Hordeum* é composto por 32 espécies, sendo a mais conhecida a espécie dística (*Hordeum distichum*), esta apresenta dois grãos por fileira na espiga e é destinada à indústria do malte. Contudo, a espécie mais utilizada na alimentação animal, a espécie forrageira, é a hexástica (*Hordeum hexastichum*), esta apresenta 6 grãos por fileira na espiga. Na FIGURA 2 pode observar-se os dois tipos de espigas.

Existem variedades sazonais, de Primavera e Inverno, e de diferentes colorações da espiga; branco, preto, vermelho, roxo e azul. As aristas das espigas poderão ser do tipo áspero ou suave. Quanto ao revestimento dos grãos, algumas variedades têm casca e outras não. As variedades descascadas têm um teor de fibra inferior.

Normalmente a variedade dística na sua generalidade tem grãos mais compridos e tem um valor de proteína superior à variedade hexástica e daí ser utilizada para o fabrico de malte (CHEEKE, 1991).



FIGURA 2. Espigas de cevada (Esquerda: variedade dística; Direita: variedade hexástica)

Fonte: <http://en.wikipedia.org/wiki/File:BarleyEars.JPG>

2.1. Produção de Cevada em Portugal e no Mundo

A produção de cevada é a quarta maior produção cerealífera a nível mundial que chega a atingir 170 milhões de toneladas de produção por ano. O seu cultivo é realizado sobretudo em climas frios como os do Norte dos Estados Unidos da América, Canadá, União Soviética, China e Europa e em áreas de elevada altitude.

Em Portugal, a produção de cevada destina-se principalmente à indústria da produção de cerveja, sendo na sua maioria da variedade dística, alternando períodos de quase auto-suficiência com épocas de ausência desta espécie nos sistemas de cultura. Nos últimos anos, algumas empresas de renome nacional têm tido maior empenho na criação e acompanhamento de sectores técnico-científicos que permitam actualização de conhecimentos imprescindíveis para a introdução de inovação quer ao nível de variedades quer ao nível de práticas culturais.

Da produção realizada em Portugal, segundo o *ANUÁRIO AGRÍCOLA DE 2006*, grande parte da cevada hexástica é destinada ao consumo interno na produção animal. A maior produção nacional é realizada no Alentejo, com um registo de 9 815 hectares e com 1 519 explorações de produção, segundo os últimos dados do *BOLETIM DE DIAGNÓSTICO SECTORIAL* (2005). Do ano 1990 até 2005, o número de explorações tem diminuído, contudo tem aumentado a superfície média de cultivo nas explorações. Na figura seguinte (FIGURA 3) é mostrada a produção de cevada desde 1999-2009 em Portugal.

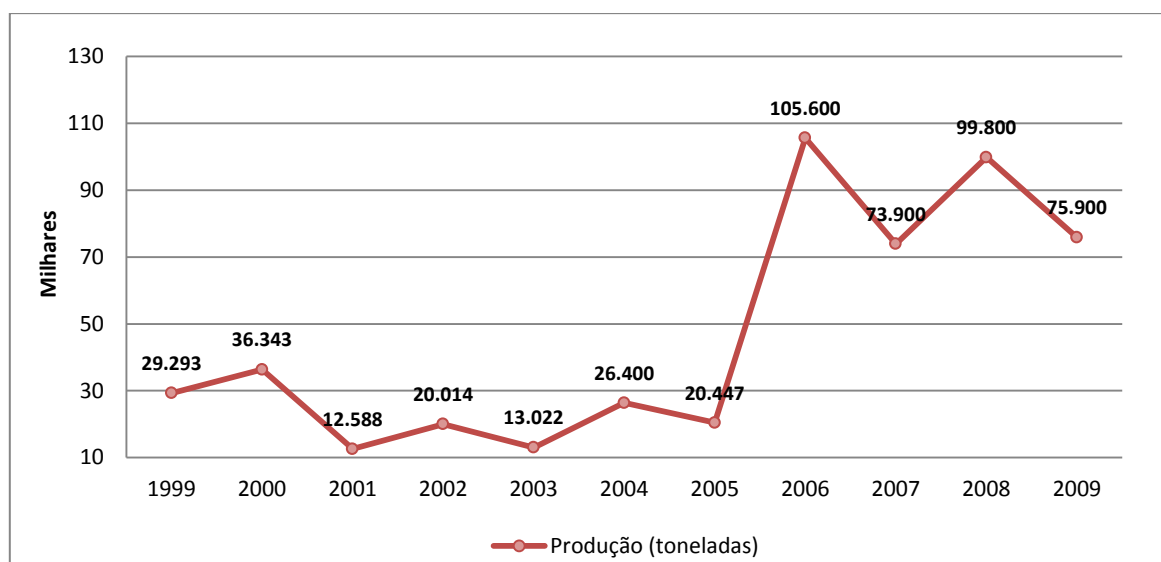


FIGURA 3. Produção de cevada de 1999 a 2009 em Portugal

Fonte: FAOSTAT, 2011

Ao nível mundial e europeu, o maior produtor de cevada é a Rússia, seguindo pela França, Alemanha e Ucrânia. No QUADRO 2 pode ver-se a produção de cevada a nível mundial e europeu, nomeadamente fazendo uma comparação entre os maiores produtores europeus e Portugal.

QUADRO 2. Produção de cevada na Europa e no Mundo

Produção de Cevada em toneladas (2009)	
Mundo	152 125 329
Europa	95 594 172
Europa Ocidental	41 865 344
Rússia	17 880 800
França	12 875 800
Alemanha	12 288 100
Ucrânia	11 833 100
Portugal	75 900

Fonte: FAOSTAT (2011)

O preço/tonelada no ano 2005-2006 segundo o *ANUÁRIO AGRÍCOLA DE 2006* da cevada dística destinada à indústria da cerveja foi de 133,63 €/tonelada e de 122 €/tonelada no caso da cevada hexástica destinada a vários fins, como a alimentação humana e a alimentação animal.

Tendo em conta os dados do EUROSTAT para 2009, Portugal teve o preço mais elevado de venda de cevada a nível Europeu, sendo 140 €/tonelada.

2.2. Composição Nutricional

A cevada tem como principal constituinte, o amido (constituído por 20% de amilose e 80% de amilopectina) que corresponde a cerca de 60% do grão de cevada; o segundo constituinte mais abundante é água que ocupa uma percentagem de 12% do grão. Em quantidades mais pequenas o grão é ocupado por proteína, celulose, matérias não azotadas, lípidos, cinzas e outras substâncias.

A energia metabolizável (EM) da cevada é de aproximadamente 2 750 Kcal/Kg MS. Esta energia está altamente correlacionada com a densidade, e há uma forte correlação negativa com a fibra (LESSON & SUMMERS, 2001).

Quanto ao teor em fibra, esta encontra-se sobretudo na casca dos grãos de cevada, e na maioria das variedades representa 10-14% do peso do seu peso, sendo que 4,5% corresponde a celulose.

A proteína bruta contida num grão de cevada é de aproximadamente 60 a 160 g/kg MS, sendo que o valor médio corresponde a 120 g/Kg MS. Percentualmente corresponde a 10% dos constituintes totais do grão. Comparativamente, a cevada tem um teor de proteína superior ao milho e de melhor qualidade (CHEEKE, 1991).

Normalmente todos os grãos de cereais apresentam uma proteína de baixa qualidade e são particularmente pobres no aminoácido lisina. Os minerais e vitaminas estão normalmente presentes nos grãos de cevada num teor de 2,6% (McDONALD *et al*, 2002).

O conteúdo de lípidos é baixo, normalmente é menos que 25 g/Kg MS, portanto cerca de 1,5% da totalidade do grão (McDONALD *et al*, 2002).

2.3. Efeitos no sistema digestivo influenciados pela variação de Factores Anti-Nutricionais

O tempo de retenção do alimento no sistema gastrointestinal e o teor de matéria seca do alimento que passa através do intestino delgado é de extrema importância para o estudo dos efeitos dos FAN no aparelho digestivo de frangos. O tempo que o alimento demora a fazer todo o trajecto, desde a ingestão até ao final da digestão é de aproximadamente 2-4 horas (JOHANSEN *et al.*, 1993). A fase gástrica do mecanismo digestivo do frango pode durar cerca de 20-45 minutos. A diferença de períodos relatados, variam consoante o tipo de matéria-prima utilizada no fabrico do alimento e a exposição ao stress ambiental por parte das aves.

A utilização de cevada em grandes quantidades poderá causar problemas severos devido à existência de FAN, levando a elevada viscosidade dos conteúdos digestivos dos frangos (BEDFORD *et al.*, 1991).

O aumento da viscosidade dos conteúdos digestivos no intestino dos animais deve-se em parte ao teor de matéria seca do alimento, pois, os solutos existentes no lúmen do intestino tornam-se mais concentrados, isto é, quanto maior for o teor de matéria seca do alimento fornecido, maior será a concentração dos constituintes do alimento, no caso em estudo, os β -glucanos.

Apesar de a cevada conter FAN, BRAKE *et al.* (1997) sugeriu que poderá ser usada sem causar efeitos negativos para as aves, até 20% no alimento destinado a frangos em crescimento e em fase de acabamento sem recurso a suplementação enzimática.

As aves são altamente susceptíveis às consequências que advêm de FAN na dieta, principalmente durante a primeira semana de vida. Em níveis elevados podem levar a uma descida da absorção intestinal, diminuição da actividade enzimática, hipertrofia do pâncreas e do intestino delgado, alteração da mucosa intestinal e estimulação do crescimento bacteriano intestinal (SMITS & ANISSON, 1996).

Estas mudanças no sistema digestivo são causadoras da diminuição da digestibilidade de vários nutrientes como o colesterol e os triglicerídeos, vitaminas e minerais. Alguns estudos comprovaram que minerais como o zinco e o magnésio são depositados em baixo nível quando o alimento fornecido é rico em FAN responsáveis pelo aumento de viscosidade dos conteúdos digestivos, levando a uma baixa performance dos animais, que pode ser verificado ao nível da mineralização na tíbia e da utilização do zinco pelas aves.

2.4. Polissacáridos Não-Amiláceos da Cevada

Alguns Polissacáridos Não-Amiláceos (PNA) existem em abundância na natureza e predominam na parede celular. O conteúdo em PNA está negativamente correlacionado com a energia metabolizável dos grãos de cereais. Estes são denominados de FAN porque têm grande capacidade de se ligarem a grandes quantidades de água resultando num aumento da viscosidade intestinal e consequente diminuição da performance. Os PNA variam em tipo, composição e nível nas diversas matérias-primas utilizadas na alimentação animal, sobretudo nos cereais (OSCARSSON, 1996).

Os β -glucanos são responsáveis normalmente pela dificuldade digestiva nas aves e ao passarem pelo intestino absorvem uma grande quantidade de água, levando à formação de um

complexo viscoso. Quando isso acontece, é reduzido largamente o contacto entre o conteúdo digestivo e as enzimas endógenas que os animais possam apresentar.

A quantidade de β -glucanos nos grãos de cevada varia consoante o tipo de cultivar, condições de crescimento (aumentam com a diminuição da precipitação), origem geográfica, estado aquando colheita e as condições de armazenamento (NAHAS & LEFRANÇOIS, 2001).

A solubilização dos β -glucanos terá influência na viscosidade dos conteúdos digestivos que interfere com a assimilação de nutrientes no intestino delgado das aves. (HESSELMAN & ÅMAN, 1986).

2.5. Diversidade das fontes e características dos β -Glucanos

Os xilanos e β -glucanos são abundantes na natureza como sendo componentes importantes das paredes celulares das plantas (BEDFORD & SHULZE, 1998). Estes fornecem a muitos organismos a energia necessária para o seu metabolismo, através dos seus constituintes dos açúcares (xilose, glucose e arabinose).

Os polímeros que constituem os β -glucanos dos cereais são compostos por umas estruturas unitárias designadas de β -D-Glucopiranoose (estruturas em anel de D-glucose formadas por 6 carbonos) unidas por ligações β -glicosídicas, estas resultam da reacção do grupo hidroxilo com o carbono anomérico de outro carbohidrato, libertando-se conseqüentemente água. (FIGURA 4).

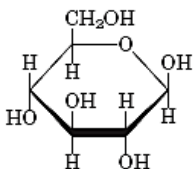


FIGURA 4. Estrutura de β -D-Glucopiranoose

Fonte: McNAB & SMITHARD (1992)

As diferenças na estrutura dos β -glucanos são evidentes de planta para planta. Eles estão localizados nas paredes celulares do endosperma e na camada de aleurona. São denominados de homopolissacáridos lineares de glucose com 70% das ligações do tipo β -1,4 e os restantes 30% do tipo β -1,3. Em média, duas ou três unidades ligadas (1-4) são separadas por uma única ligação (β -1,3) (FIGURA 5). No entanto, ligações β -1,3 causam irregularidades na estrutura molecular, que pode influenciar as propriedades e fazer com que os β -glucanos sejam parcialmente solúveis (HOLTEKJØLEN *et al.*, 2006). A sua maioria é hidrossolúvel e dentro da sua cadeia molecular as ligações não são estáveis e por isso estes polímeros formam géis viscosos (McNAB & SMITHARD, 1992).

A distinção entre os β -glucanos e a celulose encontra-se na organização destas e faz com que as suas propriedades sejam diferentes. A celulose é um polímero de cadeia linear em que o tipo de ligações é apenas de β -1,4 (CHOCT, 2006).

Outro aspecto que tem sido sugerido refere que a presença de cadeias mais longas, a partir de dez sequências de β -1,4 unidades de glucose pode permitir uma associação intermolecular destes polímeros com a parede celular de outros polissacáridos tal como a celulose ou os arabinoxilanos (ÅMAN & GRAHMAN, 1987).

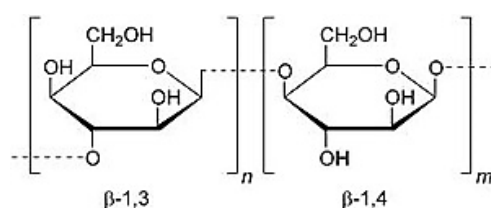


FIGURA 5. Estrutura de um β -glucano

Fonte: www.wikipedia.com

Os padrões de organização estrutural na maioria do arabinoxilanos e β -glucanos condicionam não só as propriedades físicas, como também a solubilidade, a capacidade de retenção de água, viscosidade e também a susceptibilidade à degradação enzimática (EDNEY *et al.*, 1989). Uma das teorias credíveis, relativas aos β -glucanos refere que em virtude da sua localização e do seu papel no grão de cevada, estes dificultam a libertação dos nutrientes contidos no endosperma durante os processos digestivos do sistema gastrointestinal das aves. Algumas observações realizadas revelam que a digestibilidade do azoto, amido e gordura aumentam quando se adiciona complexos enzimáticos contendo β -glucanase às dietas destinadas a frangos de carne. Neste contexto, podem ser encontrados fragmentos intactos de endosperma em fezes de aves que são alimentados à base de dietas com cevada sem utilização de enzimas (McNAB & SMITHARD, 1992). Em contraste, noutro estudo realizado, os pequenos aumentos (6-10%) aquando o abate, no peso das aves, quando foi adicionada complexos enzimáticos em dietas baseadas em cevada, não foi acompanhado por mudanças na digestibilidade na maioria dos nutrientes; a melhoria da performance foi explicada pelo aumento de ingestão de alimento (McNAB & SMITHARD, 1992). No entanto, se tivesse havido melhorias dos coeficientes de digestibilidade, os autores McNAB & SMITHARD (1992) referem que estes poderiam ser explicados pelos altos valores de energia metabolizável quando são adicionadas enzimas a dietas para frangos contendo cevada.

3. Enzimas

As proteases, lipases e carbohidrases têm sido usadas há vários anos pelas indústrias de fabrico de alimentos para aves, mas foi apenas há cerca de 10-15 anos que se iniciou o desenvolvimento específico para a utilização de enzimas na alimentação animal.

As únicas limitações da aplicação de enzimas é a sua susceptibilidade à degradação pelo excesso de temperatura e a sua instabilidade durante o processamento do alimento (LESSON & SUMMERS, 2001). No entanto algumas técnicas de processamento, nomeadamente granulação e extrusão, permitem danificar as paredes celulares do endosperma e a gelatinização do amido. Este processamento pode ser útil para um aumento da digestibilidade do alimento por partes dos frangos, contudo, por si só não é suficiente, necessitando da aplicação de enzimas exógenas no alimento (BEDFORD, 1993).

3.1. Definição e acção enzimática

As enzimas são proteínas globulares (apresentam forma esferóide e são hidrossolúveis), são catalisadores proteicos que interferem na velocidade das reacções, não sendo consumidas na reacção que catalisam. A estrutura molecular das enzimas apresenta uma região denominada centro activo. Estes locais permitem a ligação do substrato à enzima, formando o complexo enzima-substrato. Na FIGURA 6 é apresentado um esquema representativo de funcionamento das enzimas.

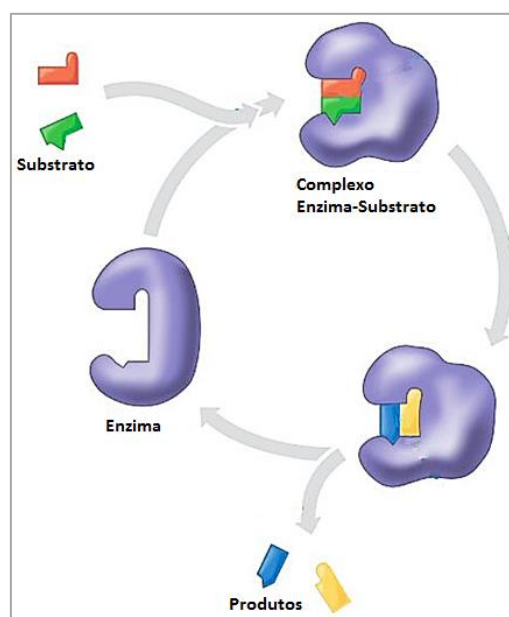


FIGURA 6. Mecanismo de acção enzimático

Fonte: <http://kvhs.nbed.nb.ca/gallant/biology/biology.html>

A especificidade das enzimas é um aspecto bem conhecido, são altamente específicas para um ou vários substratos específicos, catalisando apenas um tipo de reacção química.

São vários os factores que afectam a actividade enzimática, interferindo na velocidade de reacção ou mesmo na ocorrência de alguma reacção que elas possam realizar. Entre os factores, tem-se o pH, concentração de substrato, temperatura e a presença de inibidores. A eficiência das enzimas utilizadas na alimentação animal depende do substrato específico, actividade e especificidade do meio onde irão reagir (CHAMPE & HARVEY, 1989)

3.2. Carbohidrases

Geralmente a utilização de enzimas compreende dois objectivos específicos na alimentação animal: complementar as enzimas que os animais produzem mas em quantidade insuficiente e fornecer enzimas que os animais são incapazes de sintetizar.

Quando se aplicam enzimas carbohidrases o objectivo específico é diminuir os efeitos negativos causados pela presença de carbohidratos como são os β -glucanos da cevada. Nomeadamente, diminuição da viscosidade, proporcionar ou melhorar a digestão de alguns nutrientes que os animais não conseguem digerir e libertar outros nutrientes (FISCHER, 2001).

A aplicação de carbohidrases na alimentação animal tem a função primordial de quebrar a estrutura molecular de estruturas e ligações inertes às enzimas endógenas, eliminando assim o efeito anti-nutricional de estruturas que anteriormente impediam a absorção de nutrientes necessários ao animal (FIGURA 7).

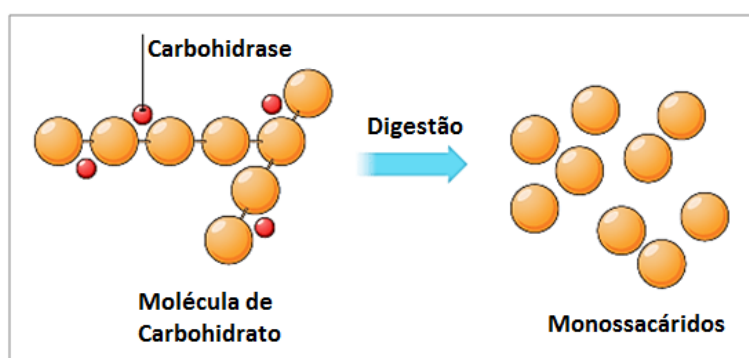


FIGURA 7. Mecanismo de acção uma carbohidrase

Fonte: <http://www.ncbe.reading.ac.uk/ncbe/materials/enzymes/viscozyme.html>

Os efeitos da aplicação de enzimas podem ser medidos através de efeitos positivos que causam nas aves e outros animais, sobretudo melhoria nos parâmetros zootécnicos, como é o exemplo do índice de conversão e peso vivo.

O mecanismo considerado benéfico não é apenas a hidrólise completa dos β -glucanos e a consequente absorção dos açúcares pelo organismo, mas também a alteração física da estrutura. Este fraccionamento permite reduzir as consequências negativas da fibra, como o aumento da retenção de água (OSCARSSON, 1996).

As aves não possuem capacidade endógena de digerir com facilidade celulose, arabinosilanos e β -glucanos. Por isso, muito interesse tem surgido na aplicação de técnicas que possam quebrar estes polímeros e para que o seu conteúdo seja disponibilizado.

4. Viscosidade

A viscosidade é uma propriedade que descreve a resistência de um fluido ao escoamento. Os fluidos resistem tanto aos objectos que se movem neles, como também ao movimento de diferentes camadas do próprio fluido. No sistema internacional a unidade de viscosidade é o *pascal* [Pa], apesar disso esta unidade é pouco utilizada. A unidade de viscosidade mais usada é o *poise* [P], em homenagem ao fisiologista francês *Jean Louis Poiseuille* (1799-1869). Um *poise* equivale a 0,1 Pa, e 1 *centipoise* [cPo] corresponde a 1 mPa. (TEIXEIRA, [s.d.])

A viscosidade intestinal é determinada num período específico, normalmente aquando o abate das aves e a respectiva recolha dos conteúdos presentes no intestino. A EMA, o IC e a viscosidade intestinal são sem dúvida, sujeitas a variações diárias. É evidente que o IC e os valores de EMA reflectem com mais precisão, uma vez que são valores médios tomados durante um período de tempo. Por outro lado, a viscosidade é medida após o abate. Não é apenas sujeita a ritmos diários, mas também aos padrões de consumo de água por cada frango e à libertação da secreção pancreática. Ambas as ocorrências poderão ser influenciadas pelo tempo de jejum antes do abate e ambas diluídas no conteúdo intestinal e, consequentemente será medida menor viscosidade (quanto maior o tempo de jejum menor será a quantidade de conteúdos intestinais recolhidos para análise e por isso com o aumento do tempo, maior a diluição). As réplicas utilizadas para medir adequadamente a energia digestível, EMA e IC deverão ser cerca de 4-5, contudo a experiência de alguns investigadores sugere que cerca de 12-16 réplicas é o número necessário para estimar razoavelmente bem a viscosidade intestinal para uma qualquer dieta especial fornecida aos frangos. No entanto muito dos dados foram referidos como trabalhados por métodos estatísticos inadequados e até 1998 havia apenas um artigo onde os dados foram correctamente aplicados. Nesse trabalho havia uma forte correlação entre a viscosidade e o IC (BEDFORD & SHULZE, 1998).

Os PNA existentes nos grãos de cereais, especialmente aqueles que são facilmente solúveis em água, são conhecidos por formar soluções altamente viscosas mesmo em baixas concentrações. Em elevadas concentrações são capazes de formar pontes que por sua vez formam géis estáveis na presença de agentes oxidantes e que influenciam a imobilização da água e a estabilidade dos lípidos emulsionados no sistema gastrointestinal.

Durante o processamento de alimentos, alguns PNA também influenciam a qualidade nutricional da matéria-prima e do produto final. Não afectam apenas a ingestão por parte dos animais, mas também a qualidade nutricional do alimento, do amido e da proteína, assim como outros nutrientes de importância (GIRHAMMAR & NAIR, 1992). O modo de acção e os efeitos causados pelos PNA apresentam-se esquematizados na figura seguinte (FIGURA 8).

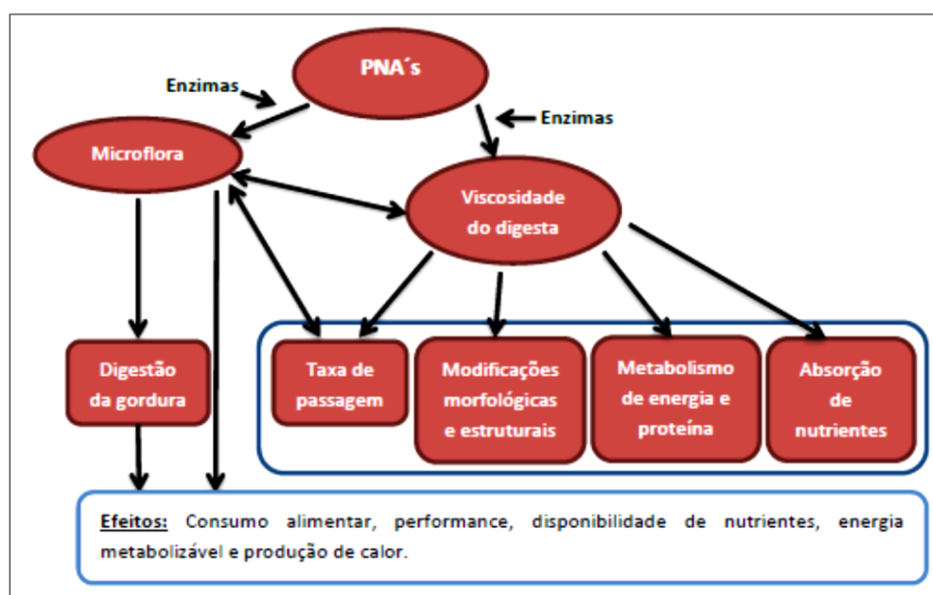


FIGURA 8. Modo de acção dos PNA's e das enzimas que os degradam
Adaptado de www.engormix.com

4.1. Factores que afectam a viscosidade

Segundo BEDFORD (1996), o aumento da utilização de energia no processo digestivo e o fraco aproveitamento dos nutrientes poderão condicionar a performance das aves. O aumento de viscosidade e a incapacidade dos animais à adaptação deste fenómeno faz com que o alimento ao passar pelo intestino delgado seja fracamente digerido e consequentemente absorvidos nutrientes em quantidade reduzida. Por esta razão será importante conhecer que causas poderão afectar a viscosidade, evitando baixas performances dos animais devido a prevalência dos factores de risco. Na tabela seguinte (QUADRO 3), são identificados factores que poderão afectar a viscosidade intestinal.

QUADRO 3. Factores que afectam a viscosidade intestinal

Factor	Efeito na Viscosidade
Variedade do grão	Variável
Condições climáticas de produção do grão	Variável
Processamento da dieta	Elevada temperatura e granulação aumentam a viscosidade
Nível de inclusão do grão	Elevados níveis de inclusão aumentam a viscosidade
Estirpe das aves	Estirpes diferentes diferem na viscosidade intestinal em dietas idênticas

Fonte: BEDFORD (1996)

A viscosidade é frequentemente afectada pelo nível de inclusão do grão (quanto maior nível de inclusão, maior será a viscosidade dos conteúdos intestinais, sendo uma relação exponencial), pelo tipo de genótipo do grão e o ambiente que este foi sujeito durante o crescimento e, pelo processamento do alimento a fornecer aos animais (a granulação tende a aumentar a viscosidade intestinal porque as elevadas temperaturas durante o processo destroem as enzimas presentes no alimento) (BEDFORD, 1996).

4.2. Efeitos da alteração da viscosidade intestinal

Quando ocorre uma variação da viscosidade, nomeadamente, o seu aumento, certamente daí advém riscos para a saúde dos frangos. Na FIGURA 9 é apresentada a resposta do organismo dos frangos ao aumento da viscosidade intestinal.

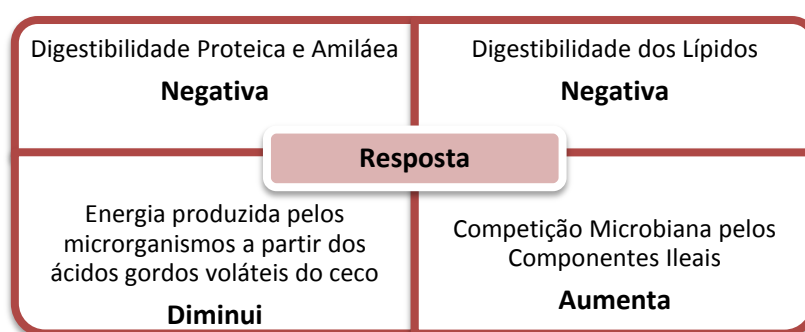


FIGURA 9. Resposta do organismo dos frangos ao aumento de viscosidade intestinal

Adaptado de BEDFORD (1996)

A digestibilidade proteica/amilácea é mais evidenciada em aves jovens quando ainda apresentam uma capacidade digestiva limitada. Aumenta o risco de baixa digestibilidade dos lípidos no caso de aves menos jovens, mas desde que o nível de gorduras nas dietas aumente e sejam gorduras na sua maioria saturadas.

O aumento da competição microbiana pelos nutrientes ileais é uma situação de quase parasitismo, em que o tipo de agentes da flora está desequilibrado, não havendo um predomínio de uma flora saudável e equilibrada, que estabeleça uma situação de simbiose com o hospedeiro. Normalmente existe maior risco desta ocorrência em aves que apresentam uma microflora cecal mais desenvolvida e/ou em aves que estejam alojadas em condições com reduzidos cuidados de higiene.

Por outro lado, aves mais velhas e com uma microflora cecal mais desenvolvida e madura são mais sensíveis e por isso, é nestas que existe maior risco de depressão da produção energia pelos microrganismos a partir dos ácidos gordos voláteis do ceco. Quando as enzimas exógenas funcionam em duas fases, fase ileal e fase cecal, na primeira fase elas evitam a formação de um complexo viscoso, durante a fase cecal, os produtos degradados dos PNA solúveis no íleo são fermentados por microrganismos cecais e desta forma produzem ácidos gordos de cadeia curta (acetato, propionato e butirato) que serão utilizados para produção de energia (JAMROZ *et al.*, 2002)

4.3. Relação da utilização de cevada com a viscosidade

A cevada é uma importante matéria-prima utilizada no fabrico de alimentos para aves. O valor nutricional da cevada é inferior ao do milho, sendo este o grão mais utilizado em dietas de frangos. No entanto, como referido anteriormente, o seu uso pode ser a causa frequente da presença de fezes viscosas e humidade das camas (HSU & CHIOU, 1997).

A cevada é conhecida pela sua contribuição no aumento dos níveis de β -glucanos nas dietas, diminuição da taxa de passagem dos conteúdos digestivos no intestino delgado, diminuição da actividade enzimática intestinal e digestibilidade de nutrientes, diminuição da eficiência de conversão e da taxa de crescimento dos frangos (BEDFORD & SHULZE, 1998).

A formação de um líquido entre a mucosa, tangente aos ápices das vilosidades, e o conteúdo intestinal é frequentemente utilizado por fisiologistas para explicar a absorção em termos de cinética. A espessura efectiva da camada líquida não é perfeitamente conhecida, provavelmente é causada pelo aumento da viscosidade do conteúdo digestivo no intestino, mas parece razoável especular que um eventual aumento da ingestão de cevada e consequentemente aumento da viscosidade do conteúdo digestivo seja uma causa de abrandamento da migração dos nutrientes desde o intestino até à corrente sanguínea, favorecendo uma acumulação intestinal. No entanto um desses ingredientes poderá ser a glucose, que nestas condições é absorvida muito lentamente pelo intestino delgado. A sua baixa

absorção aumenta a sua presença no conteúdo digestivo que irá aumentar a estimulação dos sensores intestinais que consequentemente aumentam o *feedback* de inibição do estômago das aves levando à diminuição de ingestão (MEYER *et al.*, 1988).

Como referido anteriormente, a aplicação de enzimas exógenas na alimentação de frangos permite que os riscos descritos antes sejam diminuídos e assim seja possível o uso de um ingrediente que poderia ser causador de problemas nos animais.

4.4. Desenvolvimento dos componentes digestivos com a variação da viscosidade

Quando surge um aumento excessivo de viscosidade ao nível intestinal, rapidamente ocorre uma adaptação do intestino por forma a responder às exigências nutricionais dos animais. As vilosidades intestinais respondem continuamente às condições do lúmen, podem aumentar ou diminuir o seu comprimento para alterarem e optimizarem a área de absorção. Um extenso aumento da área de absorção e superfície de actuação das enzimas digestivas ocorre principalmente nos primeiros 7 dias após a eclosão. O fornecimento de alimento durante este tempo tem um efeito crucial na taxa de transição, na proporção da superfície celular e na natureza da mucina (SHARMA *et al.* 1997).

IKEGAMI *et al.* (1997) reportou que quando há aumentos da viscosidade dos conteúdos digestivos, há um estímulo da secreção de biliar que poderá resultar num aumento do peso do fígado. Relativamente ao tamanho e número de vilosidades, quando há um aumento é indicativo de uma maior área de absorção e uma maior capacidade de absorção de nutrientes. Por esta razão é aceitável haver um aumento do comprimento intestinal para melhoria da eficiência de absorção. Na FIGURA 10 é apresentada uma representação esquemática das vilosidades intestinais indicando as medições morfométricas da mucosa intestinal possíveis de efectuar para que haja um adequado estudo destas estruturas. As medições incluídas na figura seguinte são: o tamanho das vilosidades (a), profundidade das criptas (b), largura da base da vilosidade (c) e largura na zona apical da vilosidade (d). Na figura também estão representados os enterócitos e o lúmen intestinal.

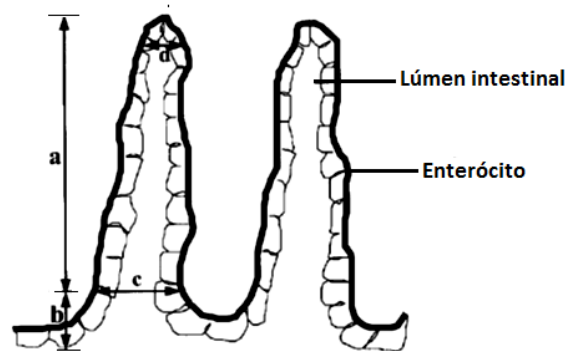


FIGURA 10. Vilosidades intestinais, mostrando medições envolvidas na morfometria da mucosa intestinal

Fonte: IJI, *et al.* (2001)

Segundo IJI *et al.* (2001) é possível o aumento de peso do intestino delgado na presença de β -glucanos. A mudança nalguns pesos dos órgãos digestivos são geralmente devido a variações da proliferação celular, tamanho das células ou síntese proteica. JONHSON *et al.* (1984) observou um aumento do comprimento intestinal de ratos alimentados com dietas que foram suplementadas com PNA e explicou o ocorrido pela actividade mitótica da mucosa intestinal. A resposta das aves a dietas altamente viscosas é produzir um íleo mais longo (YASAR & FORBES, 1999) e/ou mais pesado. Neste compartimento intestinal foi observado um aumento da profundidade das criptas (STEENFELDT, 2001). Aquando do aumento da profundidade das criptas é sugerido um grande potencial de proliferação celular. No entanto isto não é suportado por um aumento do número de células. Noutra porção, o jejuno, foi relatado para aves a redução do número de células mas que foi compensado pelo aumento de tamanho destas, para que se mantivesse o mesmo tamanho semelhante das vilosidades entre tratamentos testados. O peso dos componentes intestinais bem como a morfometria das mucosas do intestino delgado têm tendência para aumentar com o aumento da viscosidade (IJI *et al.*, 2001).

BRENES *et al.* (1993) concluiu que a suplementação de dietas com enzimas poderia originar uma redução da dimensão dos órgãos do sistema digestivo face a dietas não suplementadas: pâncreas, 24%; fígado, 8%; proventrículo, 39%; duodeno, 16%; jejuno 20%; íleo, 18% e cólon, 29%. A moela e o estômago não mostraram, segundo este autor, ser afectados pela adição de enzimas. O peso da totalidade dos órgãos foi reduzido em cerca de 13%, o que representa cerca de 1% do peso total das aves. No entanto noutro estudo, e com resultados idênticos mostrou uma diferença, que também a moela e o estômago reduziram o seu peso relativo para 15% e 17%, respectivamente com recurso a enzimas exógenas. Colectivamente, estes resultados demonstraram que o peso relativo dos órgãos intestinais e órgãos adjacentes

como o fígado e o pâncreas podem ser consideravelmente reduzidos nas aves pela inclusão de enzimas em dietas com determinados cereais (MARQUARDT *et al.* 1996).

4.5. Viscosidade como factor que afecta a performance e a saúde intestinal

A presença de β -glucanos no alimento fornecido às aves são factores responsáveis pela instabilidade da saúde intestinal e performance.

Segundo MOHANNA *et al.* (1999) a performance dos frangos é notável ao nível da mineralização da tíbia, em que é possível avaliar o nível de absorção nomeadamente de minerais como zinco, magnésio e cálcio. A espessura do osso da tíbia é um indicador do nível de absorção do intestino e caso a viscosidade dos conteúdos digestivos seja elevada, poderá levar à diminuição da absorção de cálcio o que vai ter repercussões ao nível do esqueleto do animal. Outros estudos mostram que a introdução na dieta de metil-carboxil celulose aumenta a viscosidade no lúmen intestinal e diminui a absorção de cálcio (VAN DER KLIS, *et al.*, 1993).

Relativamente aos níveis de minerais, nomeadamente zinco, quando ocorre um aumento da viscosidade, é verificada a sua diminuição de utilização, segundo KANH *et al.* (1987). Contudo, a diminuição da absorção mineral, poderá levar à excreção de zinco pelos frangos e consequentemente há um aumento do risco de fitotoxicidade do solo, mais agravado em zonas de produção intensiva (MOHANNA & NYS, 1999).

Deve ser considerado o tipo de matéria-prima a ser utilizada na alimentação de aves, pois o nível de viscosidade que irá originar deve ser um critério essencial. Alta viscosidade dos conteúdos intestinais leva à diminuição de zinco assim como de outros minerais (MOHANNA & NYS, 1998).

Foi observado por BRAKE (1997), que quando os níveis de cevada são aumentados significativamente na dieta, ocorre simultaneamente um aumento da humidade das camas. Isto poderá apresentar-se como um problema de manejo e a possibilidade de ocorrerem problemas de membros e dermatite das almofada plantar (DAP).

Quando são adicionados complexos enzimáticos com β -glucanases nas dietas ricas em cevada há uma hidrólise eficaz do β -glucano, há uma diminuição do seu grau de polimerização, a ingestão de água diminui e existe eventualmente uma redução da humidade da cama (CHESSON, 1993).

Outros factores indicadores de performance, como o IC, foram relatados por alguns autores (BEDFORD, 1995; CLASSEN, 1985) como sendo um factor alterado pelos níveis de FAN nos alimentos para aves. A presença destes origina depressões nas taxas de crescimento e piores

índices de conversão, mas as melhorias tecnológicas e a destruição de FAN, permitem o inverso (TOVAR *et al.*, 1991).

O alimento ingerido pelas aves pode conter nutrientes, não-nutrientes e, potenciais e perigosos microrganismos. Contudo, o sistema gastrointestinal de um frango actua selectivamente como barreira entre os tecidos e o ambiente do lúmen. Esta barreira é física, química, imunológica e composta por componentes microbiológicos.

A dieta utilizada na alimentação de frangos poderá ser um factor determinante na saúde intestinal das aves. As propriedades dos PNA são largamente conhecidas, nomeadamente a resistência a algumas enzimas digestivas (CHOCT & ANNISSON, 1992). A presença de PNA solúveis diminui a taxa de passagem dos conteúdos digestivos e consequentemente de nutrientes. O aumento de tempo de retenção dos conteúdos digestivos facilita a colonização bacteriana e a sua actividade no intestino delgado, por outro lado uma taxa de digestão rápida permite a colonização de menor número de bactérias (FIGURA 11) (WALDENSTEDT *et al.*, 2000).

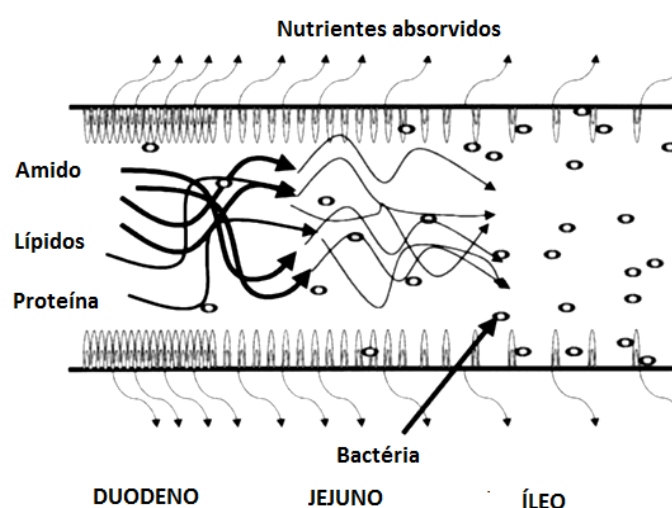


FIGURA 11. Relação entre a taxa digestiva de uma dieta e a densidade de população microbiana
Fonte: BEDFORD (2000)

A colonização bacteriana poderá ser o grande factor de destruição do epitélio intestinal, algumas enterobactérias como a *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* e *Campylobacter jejuni*, são capazes de atravessar a barreira intestinal e infectar os animais.

Um aumento da actividade microbiana no intestino delgado aumenta a desconjugação dos ácidos biliares neste compartimento como foi referido por LANGHOUT *et al.* (2000). A redução da conjugação dos ácidos biliares foi sugerida para explicar a redução de micelas, que poderão ser a causa que limita a absorção dos ácidos gordos. Foi demonstrado que a inclusão excessiva de gorduras nas dietas poderá ser uma razão para o aumento da viscosidade e não é

só a presença de PNA solúveis o que pode influenciar a presença de microflora patogénica no intestino delgado (LANGHOUT *et al.*, 2000).

Quando ocorre o aumento de viscosidade, não há só um decréscimo da absorção por parte do lúmen intestinal e pelas vilosidades, mas também ocorre uma troca gasosa entre as paredes do intestino e os conteúdos digestivos. A diminuição parcial de oxigénio com os aumentos da concentração de nutrientes no intestino pode permitir também o desenvolvimento microbiano, particularmente microrganismos anaeróbios (LANGHOUT *et al.*, 2000).

Desde que haja um amplo conhecimento do mecanismo de acção das bactérias e outros organismos patogénicos é possível modificar a alimentação destinada aos frangos de forma a modelar a colonização das bactérias e assim prevenir infecções.

O sistema digestivo dos frangos corresponde a uma elevada superfície de exposição do corpo, e existem uma série de factores associados com a dieta e agentes infecciosos que podem afectar negativamente o equilíbrio intestinal dos frangos. Quando se proporciona uma diminuição de organismos patogénicos ou modificações dos efeitos no intestino, existe uma oportunidade de promover melhorias do ponto de vista da eficiência alimentar porque é um grande número de sistemas que pode ser afectado.

4.6. Métodos de determinação da viscosidade

A viscosidade é determinada através frequentemente de aparelhos electrónicos, designados de *viscosímetros*. Existem vários tipos de viscosímetros, dependendo do propósito da medida e do tipo de amostra a ser analisada, são eles, viscosímetro capilar, de orifício, rotacional, de cone e placa e de esfera.

Para medição de pequenas amostras e fluídos biológicos, como é o caso dos conteúdos digestivos, o mais utilizado é o viscosímetro de cone e placa (Exemplo: viscosímetro *Brookfield Cone and Plate LVCDVII*) representado na FIGURA 12. Estes medem a força de torção que é conduzida por uma leve rotação levada a cabo pelo cone que fica na parte superior da placa e que contém a amostra. O sistema de medição da torção consiste numa mola de berílio-cobre ligada a um mecanismo de rotação do cone que detecta a resistência de rotação causada pela amostra entre o cone e a placa estacionária. A resistência de rotação do cone produz uma torção que é proporcional à força do fluido. (www.brookfieldengineering.com)



FIGURA 12. Viscosímetro de cone e placa
Fonte: www.brookfieldengineering.com

III. OBJECTIVOS

O objectivo deste estudo foi analisar a relação entre a viscosidade *in vivo* e *in vitro* de alimentos à base de cevada em frangos de carne. Também se estudaram os efeitos nos parâmetros zootécnicos de frangos machos Ross 308 e a variação da viscosidade *in vivo* quando lhes são fornecidas dietas à base de cevada com ou sem suplementação enzimática.

IV. MATERIAIS E MÉTODOS

Este ensaio decorreu na secção de ensaios experimentais do departamento de Produção Animal do Instituto Superior de Agronomia (Lisboa), iniciando-se a 26 de Outubro de 2010 e com término a 24 de Novembro do mesmo ano.

1. Instalações e Animais

A sala utilizada para o ensaio, estava equipada com sistema de ar condicionado e de ventilação, balança para pesagem de animais e alimento, assim como todo o material de limpeza da sala. Estava equipada com 40 gaiolas das quais apenas foram utilizadas 35, com uma área cada de 2750 cm² o que correspondeu a aproximadamente 688 cm² por animal (4 animais/gaiola). Estavam distribuídas em duas fileiras, e em cada fileira era composta por patamares. Cada gaiola dispunha de dois bebedouros e um comedouro, que foram ajustados à medida que os animais aumentavam de tamanho, garantido que a sua posição durante a ingestão fosse a mais adequada. Também foram dispostas lâmpadas para aquecer os animais durante o ensaio experimental. A temperatura da sala foi controlada e regulada sempre que necessário através do ar condicionado e ventilador para permanecer em constante as condições ambientais ideais aos animais. À medida que os animais cresciam, a temperatura da sala ia sendo diminuída até ao mínimo de 21°C. Durante os 28 dias de ensaio experimental, os filtros do ar condicionado foram limpos regularmente para manter o seu bom funcionamento.

Foram adquiridos cerca de 300 pintos do dia, e destes foram sexados à recepção 140 machos, da estirpe Ross 308. Os animais ao serem distribuídos pelas 35 gaiolas foram pesados e identificados com uma anilha na asa. Cada gaiola alojou 4 animais que foram distribuídos ao acaso.

Semanalmente havia procedimentos habituais, nomeadamente pesagem dos animais e do refugo de alimento existente nos comedouros no dia das pesagens. A mortalidade dos animais foi registada diariamente.

Aos 28 dias de idade, foram abatidos 5 animais de cada tratamento, um por cada réplica. Anteriormente foi-lhes fornecido alimento *ad libitum* para que após o abate tivessem os compartimentos intestinais cheios.

Os animais foram dessecados e foi-lhe recolhido para pesagem e medição, a moela, duodeno, jejuno, cecos, íleo, fígado e pâncreas. Do duodeno, jejuno e íleo foram recolhidos os seus conteúdos e armazenados em *greiners* devidamente identificados (Greiner 1: Jejuno+Duodeno; Greiner 2: Íleo) para posterior leitura da sua viscosidade.

2. Alimento Utilizado e Tratamentos

O alimento utilizado no ensaio experimental foi previamente preparado na fábrica de alimento composto para animais existente no departamento de Produção Animal do Instituto Superior de Agronomia. Foi fabricado tendo em conta as necessidades e especificações recomendadas para frangos de carne e de forma a respeitar o bem-estar animal.

As aves foram submetidas a 7 tratamentos (0; 18S; 36S; 54S; 18C; 36C; 54C) com 5 réplicas cada, ao longo de 28 dias. Consistindo em diferentes percentagens de cevada e com ou complexo enzimático (contendo β -Glucanase). O alimento 0% foi considerado controlo por não apresentar cevada e por isso sem enzimas. Foi formulado e administrado aos animais um alimento com 18% de cevada, um com enzimas e outro sem enzimas. O método anterior foi repetido duas vezes, um com a utilização de 36% de cevada e outro com 54% de cevada. Ao aumentar-se a percentagem de cevada, diminuiu-se a quantidade de milho na fórmula, procurando manter-se iguais a energia metabolizável e a proteína bruta entre as várias dietas.

Nos quadros seguintes (QUADRO 4 e 5) apresentam-se os ingredientes utilizados e a composição calculada e analisada das dietas utilizadas durante o ensaio experimental.

QUADRO 4. Composição física e química calculada das dietas fornecidas ao longo dos 28 dias de ensaio

Ingredientes (%)	Dietas			
	0	18 ^c	36 ^c	54 ^c
Milho	53	34	19	3,5
Bagaço de Soja 47%	35,5	34	32,8	31,3
Cevada	0	18	36	54
Sêmea de Trigo	3,56	4,14	1,31	0
Óleo de Soja	3,5	5,5	6,5	7,1
Soja Integral	0	0	0	0
Metionina Sintética	0,24	0,25	0,27	0,3
Lisina Sintética	0,17	0,18	0,2	0,25
Carbonato de Cálcio	1,58	1,58	1,38	1,4
Fosfato Bicálcico ^a	1,8	1,7	1,9	1,55
Sal	0,45	0,45	0,44	0,4
Premix ^b	0,2	0,2	0,2	0,2
Composição Calculada				
EM (Kcal/Kg)	3029,6	3026,9	3034,9	3003,1
MS (%)	84,5	85,6	85,5	86,2
PB (%)	21,2	21,2	21,2	21,2
Lisina Disponível (%)	1,2	1,2	1,2	1,3
Metionina Disponível (%)	0,56	0,6	0,6	0,6
TSAA (%)	0,9	0,9	0,9	0,9
Ca (%)	1,1	1,1	1,0	1,0
P Disponível (%)	0,5	0,5	0,5	0,4
Na (%)	0,2	0,2	0,2	0,2

^(a) Contém 200 g/Kg de Cálcio e 180 g/Kg de fósforo

^(b) Premix mineral e vitamínico com a seguinte composição por Kg de alimento: biotina 0,5 mg; pantotenato de cálcio 10 mg; Colecalciferol 0,05 mg; Cianocobalamina 0,12 mg; Ácido Fólico 0,5 mg; Menadiona 2 mg; Ácido Nicotínico 30 mg; Piridoxina 1,7 mg; Retinol 2,7 mg; Tiamina 1 mg; α-Tocoferol 20 mg; Riboflavina 4,2 mg; Cobalto 0,2 mg; Cobre 10 mg; Ferro 80 mg; Iodo 1 mg; Manganês 100 mg; Selênio 0,3 mg; Zinco 80 mg; Monensina 0,1 mg.

^(c) Fabricados dois lotes iguais e num deles foi adicionado o complexo enzimático Rovabio ExcelTM

QUADRO 5. Composição química analisada em laboratório das dietas fornecidas ao longo dos 28 dias de ensaio

Composição Analisada							
	0	18S	36S	54S	18C	36C	54C
EB (Kcal/Kg MS)	4532,1	4665,5	4698,1	4726,1	4706,2	4706,0	4747,9
MS (%)	88,1	88,9	89,6	89,9	89,0	89,4	90,3
PB (%)	25,1	24,4	23,6	23,9	23,4	22,8	24,8
NDF (% MS)	11,2	14,6	14,7	14,9	14,8	13,3	15,5
ADF (% MS)	3,6	4,5	4,5	4,6	4,4	4,3	4,0
ADL (% MS)	0,6	1,0	0,8	1,0	1,0	0,8	1,1
Cinza (%)	7,1	7,2	7,2	7,0	7,9	6,9	7,4

Na preparação do alimento, os ingredientes grosseiros foram moídos e doseados (milho, bagaço de soja e cevada). Os ingredientes em menores quantidades foram igualmente doseados, e foi feita uma pré-mistura destes. Seguidamente todos os ingredientes foram misturados numa misturadora horizontal durante 7 minutos. Decorrido o período de mistura, o alimento farinado foi armazenado em caixas de plástico até à sua utilização.

O complexo enzimático utilizado no ensaio experimental e incorporado nas dietas foi a Rovabio™ Excel. É um complexo versátil e flexível, pois é recomendado para vários animais e para qualquer tipo de grão de cereal.

A versatilidade de acção pela Rovabio™ Excel surge por este ser um composto multi-enzimático, de origem natural que advém de um único microrganismo geneticamente não modificado, *Penicillium funiculosum*, capaz de produzir durante a sua fermentação xilanases, β -glucanases e celulasas. A combinação de várias enzimas resulta num processo de sinergia, havendo uma óptima degradação de uma ampla variedade de compostos não digestíveis presentes nos alimentos. No quadro seguinte (QUADRO 6) é apresentado a variedade enzimática que constitui o Rovabio™ Excel.

QUADRO 6. Grupos enzimáticos presentes no Rovabio™ Excel

Enzimas presentes no Rovabio™ Excel			
Grupo Enzimático	Nome da Enzima	Grupo Enzimático	Nome da Enzima
Xilanases	Endo-1,4- β -xilanase α -arabinofuranosidase β -xilosidase Endo-1,5- α -arabinanase Esterease ferúlica	Pectinases	Pectinase Poligalacturonase Pectina esterease
		Proteases	Protease aspártica Metaloprotease
β -Glucanases	Endo-1,3(4)- β -glucanase Laminarinase	Outros	Endo-1,4- β -mananase β -manosidase
Celulasas	Endo-1,4- β -glucanase Celobiohidrolase β -glucosidase		

Fonte: Folheto Informativo Rovabio™ Excel (2003)

As vantagens da Rovabio™ Excel são: utilização de um único produto, com espectro amplo para animais e grãos de cereais; as indústrias de fabrico de alimentos para animais têm a possibilidade de adquirir apenas um produto enzimático, facilitando o armazenamento e a redução de produtos nas fábricas, e diminuição de custos na aquisição de ingredientes alternativos.

A segurança do complexo enzimático não compromete o nível de proteína e energia esperados para o produto final, isto é, não provoca qualquer alteração nestes dois parâmetros. Como se trata de um produto flexível e de dosagem padrão para multi-espécies animais, os procedimentos de rotulagem poderão ser minimizados e simplificados. A dose de aplicação é constante e não é alterada com a composição do alimento. A aplicação do produto em pó concentrado recomenda a incorporação de 50 g de RovabioTM Excel /1000 Kg de alimento formulado, tal como foi aplicado nas dietas preparadas para alimentar os frangos durante o ensaio experimental.

Em Folheto Informativo RovabioTM Excel (2003) poderá verificar-se alguns parâmetros zootécnicos esperados em frangos de carne aquando a aplicação de cevada e do complexo enzimático comparativamente com um alimento baseado em cevada e sem RovabioTM Excel, esperando-se de forma padrão que o aumento de ganho de peso melhore 3,2% e o IC diminua 5,7%.

Este produto, poderá resultar numa melhoria do ganho médio e/ou melhoria do índice de conversão até 6 pontos percentuais, dependendo do tipo de alimento e das matérias-primas utilizadas, pode também originar uma melhoria dos custos de alimento por Kg de ganho de peso assim como uma maior homogeneidade dos animais aquando o abate.

A adição do complexo enzimático foi realizada durante a pré-mistura dos ingredientes menos grosseiros (Premix, Sal, Metionina Sintética, Lisina Sintética, Carbonato de Cálcio e Fosfato Bicálcico) para que esta ficasse bem homogeneizada, só posteriormente a anterior mistura foi colocada na misturadora horizontal juntamente com os restantes ingredientes da fórmula, garantindo-se assim a não deposição das partículas mais finas no fundo da misturadora ou uma deficiente mistura de todos os ingredientes.

Os tratamentos aplicados foram distribuídos de acordo com a disposição da sala de alojamento dos animais, isto é, cada tratamento existia em ambos os corredores e em ambos os patamares da gaiola, para que a distribuição do tratamento fosse o mais homogénea possível e com o mínimo de interferências ambientais, nomeadamente as correntes de ar. (FIGURA 13)

	18C	54C	54C	18S	18S	36S	36S	18C	18C	36C	
	54C	18S	0	36C	36C	0	0	54S	54S	36S	
	54S	0	0	54S	54S	18S	18S				
36C	36C	18C	18C	36S	36S	54C	54C				

FIGURA 13. Esquema representativo da sala de ensaio com a distribuição dos diferentes tratamentos, pelas 40 gaiolas existentes

3. Análises

Imediatamente após a recolha dos conteúdos do Duodeno+Jejuno e Íleo, estes foram submetidos à leitura da sua viscosidade utilizando um viscosímetro *Brookfield cone and plate LVCDVII*. Procedeu-se à sua centrifugação a 9000 r.p.m. durante 10 minutos, o sobrenadante que se obteve foi pipetado e colocou-se no *spindle* do viscosímetro para a leitura da viscosidade em *centipoise* [cPo].

Para a medição da viscosidade *in vitro* (do alimento) também foi utilizado um viscosímetro, o mesmo utilizado para a determinação da viscosidade dos conteúdos dos compartimentos intestinais referidos acima. Pesaram-se 15 g do alimento moído (crivo a 1,0 mm) para tubos de centrifuga previamente e devidamente identificados, e em duplicado. Seguidamente adicionou-se 15 mL de solução tampão constituída por K_2HPO_4 e ácido cítrico (pH = 6,5), e agitou-se. Os tubos foram colocados na centrífuga a 9000 r.p.m. durante 10 minutos, findo este período recolheu-se o sobrenadante de cada tubo e distribui-se por 2 *eppendorfs*, utilizaram-se por isso 16 tubos *eppendorfs*, 2 por cada tratamento e 2 para a amostra de cevada. Lavaram-se os tubos a incubar em banho-maria a 40°C durante 30 minutos. Seguidamente, os *eppendorfs* foram levados à centrífuga a 5000 r.p.m. durante 5 minutos de acordo com o método de RIBEIRO *et al.* (2011) Por fim, procedeu-se à leitura das viscosidades.

4. Análise Estatística

A análise estatística foi realizada com recurso ao método de análise de variância de acordo com o procedimento *General Linear Model* do programa SAS.

Utilizou-se o teste de Duncan do programa estatístico SAS para analisar as diferenças entre médias de cada parâmetro mensurado, sendo consideradas significativas quando $P < 0,05$. Foi utilizado o mesmo programa para a análise de regressão de dados, considerando-se significativos valores com $P < 0,15$.

V. RESULTADOS

1. Viscosidade da Ração (*in vitro*)

Pela determinação da viscosidade *in vitro* após banho-maria, verificou-se que a dieta que apresentou maior valor de viscosidade (cPo) foi a 54S, comparando-se com a dieta controlo (0) ficou acima cerca de 2,1 cPo. Pelo QUADRO 7 pode verificar-se que nos tratamentos sem enzima, com o aumento de cevada aumenta o valor medido de viscosidade.

QUADRO 7. Resultados obtidos para viscosidade *in vitro*

TRT ⁽¹⁾	Viscosidade da Ração (cPo) ⁽²⁾
0	2,3 ± 0,72
18S	2,6 ± 0,07
36S	3,6 ± 0,15
54S	4,4 ± 0,06
18C	2,6 ± 0,29
36C	2,2 ± 0,11
54C	3,0 ± 0,18

⁽¹⁾ 0 representa o tratamento sem aplicação de cevada e de enzima, 18S o tratamento com 18% de cevada e sem aplicação de enzima, 36S o tratamento com 36% de cevada e sem enzima, 54S o tratamento com 54% de cevada e sem enzima. 18C representa o tratamento com 18% de cevada e com enzima, o 36C o tratamento com 36% de cevada e com enzima e 54C o tratamento com 54% de cevada e com aplicação de enzima.

⁽²⁾ Valores médio obtidos após medição realizada após banho-maria num viscosímetro *Brookfield cone and plate LVCDVII*, a 9000 r.p.m.

2. Parâmetros Zootécnicos

Os resultados relativos à aplicação dos tratamentos com diferentes dosagens de cevada e com ou sem aplicação de enzima, expressos em peso vivo, ingestão de alimento e índice de conversão são apresentados no QUADRO 8.

Verificou-se para o peso vivo das aves que o tratamento 54S foi significativamente inferior aos restantes tratamentos ao longo de todo o ensaio, não havendo diferenças significativas entre os restantes tratamentos.

Na ingestão de alimento é possível verificar-se que os tratamentos não difeririam significativamente entre si durante todo o ensaio experimental, excepto o tratamento 54S que foi sempre significativamente inferior aos restantes tratamentos.

O índice de conversão foi significativamente superior no tratamento 54S dos 14 aos 21 dias, em relação a todos os outros tratamentos em estudo. Foi no tratamento 36C que se

registrou o valor mais baixo no período total de ensaio mas mesmo assim não foi significativamente inferior em relação a todos os tratamentos utilizados.

QUADRO 8. Efeito da aplicação dos diferentes tratamentos aplicados durante o ensaio experimental no peso vivo, ingestão de alimento e no índice de conversão das aves

Peso Vivo (g)	TRT ⁽¹⁾	0 d	7 d	14 d	21 d	28 d
	0	43	157 ^a	441 ^a	818 ^a	1238 ^a
	18S	43	153 ^a	406 ^a	771 ^a	1213 ^a
	36S	43	163 ^a	438 ^a	788 ^a	1236 ^a
	54S	43	125 ^b	298 ^b	559 ^b	927 ^b
	18C	43	161 ^a	422 ^a	817 ^a	1324 ^a
	36C	43	160 ^a	425 ^a	802 ^a	1345 ^a
	54C	42	168 ^a	436 ^a	813 ^a	1270 ^a
	SEM	0,267	2,101	6,325	12,919	21,484
	P(F)	NS	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Ingestão de Alimento (g)	TRT ⁽¹⁾	0-7 d	7-14 d	14-21 d	21-28 d	Total
	0	127 ^b	354 ^a	581 ^a	719 ^b	1784 ^{ab}
	18S	129 ^b	326 ^b	523 ^b	722 ^b	1700 ^b
	36S	139 ^a	356 ^a	521 ^b	758 ^{ab}	1775 ^{ab}
	54S	105 ^c	224 ^c	425 ^c	572 ^c	1319 ^c
	18C	135 ^{ab}	349 ^a	569 ^{ab}	805 ^a	1858 ^a
	36C	135 ^{ab}	334 ^{ab}	540 ^{ab}	817 ^a	1831 ^a
	54C	139 ^a	334 ^{ab}	557 ^{ab}	743 ^b	1774 ^{ab}
	SEM	1,408	4,571	7,790	9,783	20,877
	P(F)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Índice de Conversão	TRT ⁽¹⁾	0-7 d	7-14 d	14-21 d	21-28 d	Total
	0	1,17	1,29	1,59 ^b	1,84	1,52
	18S	1,18	1,31	1,56 ^b	1,90	1,54
	36S	1,28	1,33	1,59 ^b	2,03	1,57
	54S	1,34	1,44	2,05 ^a	1,77	1,65
	18C	1,16	1,36	1,48 ^b	1,62	1,47
	36C	1,20	1,30	1,40 ^b	2,05	1,44
	54C	1,12	1,25	1,48 ^b	1,61	1,46
	SEM	0,029	0,022	0,056	0,101	0,033
	P(F)	NS	NS	0,047	NS	NS

⁽¹⁾ 0 representa o tratamento sem aplicação de cevada e de enzima, 18S o tratamento com 18% de cevada e sem aplicação de enzima, 36S o tratamento com 36% de cevada e sem enzima, 54S o tratamento com 54% de cevada e sem enzima. 18C representa o tratamento com 18% de cevada e com enzima, o 36C o tratamento com 36% de cevada e com enzima e 54C o tratamento com 54% de cevada e com aplicação de enzima.

^(a-c) Os valores de média na mesma coluna que não apresentam letra comum são significativamente diferentes (P<0,05)

3. Viscosidade dos conteúdos digestivos (*in vivo*)

Os resultados relativos à viscosidade dos conteúdos digestivos com a aplicação de dietas com diferentes níveis de cevada e com ou sem complexo enzimático são apresentados no QUADRO 9 e na FIGURA 14.

De acordo com os resultados obtidos para a viscosidade do conteúdo digestivo, verificou-se que nos compartimentos duodeno e jejuno, não existem diferenças significativas entre tratamentos, excepto com o tratamento 54S. Neste, a diferença de viscosidade é significativamente superior aos restantes tratamentos.

Foi na viscosidade dos conteúdos digestivos do íleo que se obtiveram valores superiores, relativamente às porções anteriores (duodeno e jejuno). No íleo, os valores de viscosidade são significativamente superiores nos tratamentos 36S e 54S em relação a todos os outros tratamentos sem enzima. Verifica-se também que o tratamento 54C não difere significativamente do tratamento 36S.

Pelo gráfico apresentado na FIGURA 16, é ao nível do íleo que os valores de viscosidade são maiores relativamente às porções duodeno+jejuno.

QUADRO 9. Efeito da aplicação de diferentes níveis de cevada, com ou sem utilização de enzima β -glucanase na viscosidade dos conteúdos digestivos, mensurados em diferentes compartimentos do intestino delgado (em centipoise – cPo)

	TRT ⁽¹⁾	Duodeno + Jejuno	Íleo
Viscosidade	0	2,8 ^b	3,7 ^c
	18S	3,2 ^b	6,1 ^c
	36S	5,4 ^b	11,8 ^{ab}
	54S	8,8 ^a	12,2 ^a
	18C	2,5 ^b	4,9 ^c
	36C	2,8 ^b	6,3 ^c
	54C	3,8 ^b	6,6 ^{bc}
	SEM	0,480	0,803
	P(F)	0,0004	0,015

⁽¹⁾ 0 representa o tratamento sem aplicação de cevada e de enzima, 18S o tratamento com 18% de cevada e sem aplicação de enzima, 36S o tratamento com 36% de cevada e sem enzima, 54S o tratamento com 54% de cevada e sem enzima. 18C representa o tratamento com 18% de cevada e com enzima, o 36C o tratamento com 36% de cevada e com enzima e 54C o tratamento com 54% de cevada e com aplicação de enzima.

^{a-c} Os valores de média na mesma coluna que não apresentam letra comum são significativamente diferentes (P<0,05)

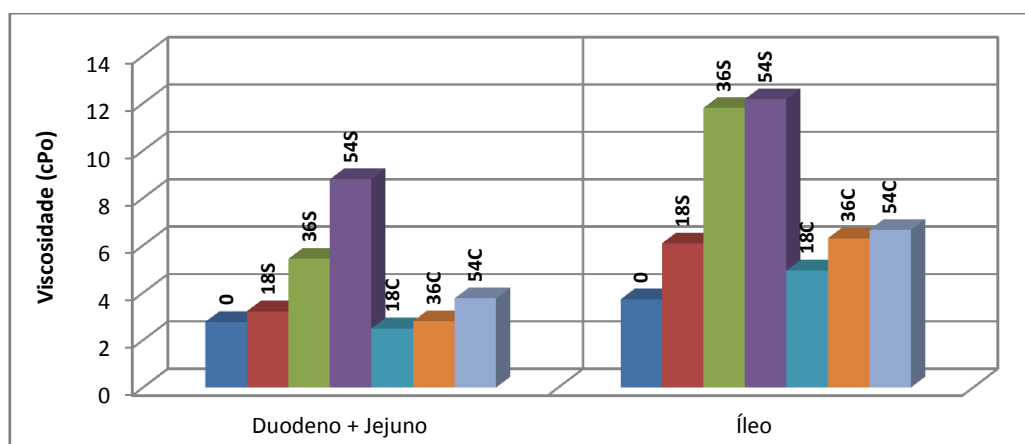


FIGURA 14. Efeito da aplicação de diferentes níveis de cevada, com ou sem utilização de enzima na viscosidade dos conteúdos digestivos, mensurados em diferentes compartimentos do intestino delgado

4. Dimensões dos órgãos do sistema digestivo

Os efeitos do fornecimento de dietas à base de cevada e com ou sem aplicação de enzima na dimensão dos órgãos do sistema digestivo são apresentados no QUADRO 10 e na FIGURA 15.

Observaram-se diferenças tendencialmente significativas entre tratamentos no peso do íleo, sendo o tratamento 54S aquele em que se registou um valor superior em relação às restantes dietas mas ainda assim, não foi significativamente superior ao nível de significância utilizado.

No comprimento das porções do intestino delgado, apenas os valores para o jejuno não demonstraram diferenças significativas entre tratamentos e os valores de comprimento do ceco foram tendencialmente significativos entre os vários tratamentos, o tratamento 54S foi o que apresentou um comprimento de ceco superior relativamente aos restantes tratamentos.

Foi com a dieta 54S que se obteve um comprimento do duodeno maior. Contudo a dieta 18C não mostrou um valor significativamente diferente da primeira nem dos restantes tratamentos, apesar de ter um valor um pouco menor.

Os valores correspondentes ao comprimento do íleo mostraram-se não significativamente diferentes entre os tratamentos 0, 36S, 54C. O tratamento 54S foi significativamente superior aos restantes tratamentos, excepto aos tratamentos 0 e 18S, com estes não foram verificadas diferenças significativas de tamanho do íleo.

O comprimento do ceco foi um parâmetro tendencialmente significativo e em que de novo se verifica o maior valor de média no tratamento 54S, contudo sem diferenças

significativas deste, foram os tratamentos 0 e 18S. Estes dois últimos tratamentos relativamente aos restantes (36S, 18C, 36C e 54C) não mostraram valores do comprimento do ceco tendencialmente diferentes.

QUADRO 10. Efeito da utilização de diferentes percentagens de cevada, com ou sem utilização de enzima, nas dimensões dos órgãos do sistema digestivo

TRT ¹	Peso (g/Kg)							Comprimento (cm/Kg)			
	Moela	Fígado	Duodeno	Jejuno	Íleo	Ceco	Pâncreas	Duodeno	Jejuno	Íleo	Ceco
0	15,9	24,3	6,3	12,4	9,6 ^b	2,8	2,7	19,0 ^b	12,4	50,2 ^{abc}	12,5 ^{ab}
18S	15,2	21,1	7,3	13,0	9,7 ^b	2,6	2,6	20,0 ^b	13,0	55,9 ^{ab}	12,7 ^{ab}
36S	17,3	25,0	7,3	13,0	10,8 ^{ab}	2,6	2,7	18,3 ^b	13,0	49,0 ^{bc}	11,9 ^b
54S	17,4	25,0	8,5	14,9	12 ^a	3,5	2,7	24,1 ^a	14,9	57,3 ^a	14,8 ^a
18C	16,6	27,3	7,2	13,5	10,7 ^{ab}	2,8	2,6	20,8 ^{ab}	13,5	47,2 ^c	11,7 ^b
36C	15,5	23,8	6,8	12,0	9,9 ^b	2,9	2,6	20,2 ^b	12,0	45,7 ^c	12,1 ^b
54C	15,4	24,0	7,1	12,7	9,0 ^b	2,3	2,6	19,4 ^b	12,7	48,5 ^{bc}	11,4 ^b
SEM	0,358	0,611	0,242	0,305	0,273	0,108	0,066	0,494	0,305	1,145	0,321
P(F)	NS	NS	NS	NS	0,05 ^{TS}	NS	NS	0,036	NS	0,031	0,08 ^{TS}

⁽¹⁾ 0 representa o tratamento sem aplicação de cevada e de enzima, 18S o tratamento com 18% de cevada e sem aplicação de enzima, 36S o tratamento com 36% de cevada e sem enzima, 54S o tratamento com 54% de cevada e sem enzima. 18C representa o tratamento com 18% de cevada e com enzima, o 36C o tratamento com 36% de cevada e com enzima e 54C o tratamento com 54% de cevada e com aplicação de enzima.

^(TS) Os valores de média da mesma coluna que não apresentam letra comum têm uma tendência significativa ($P < 0,1$)

^(a-c) Os valores de média na mesma coluna que não apresentam letra comum são significativamente diferentes ($P < 0,05$)

Ao analisar-se a FIGURA 15, verifica-se que os tratamentos com cevada e sem enzima originam na sua generalidade um aumento relativo dos órgãos do sistema digestivo com o aumento do nível de cevada, tanto em peso como em comprimento, comparativamente com uma dieta controlo (0).

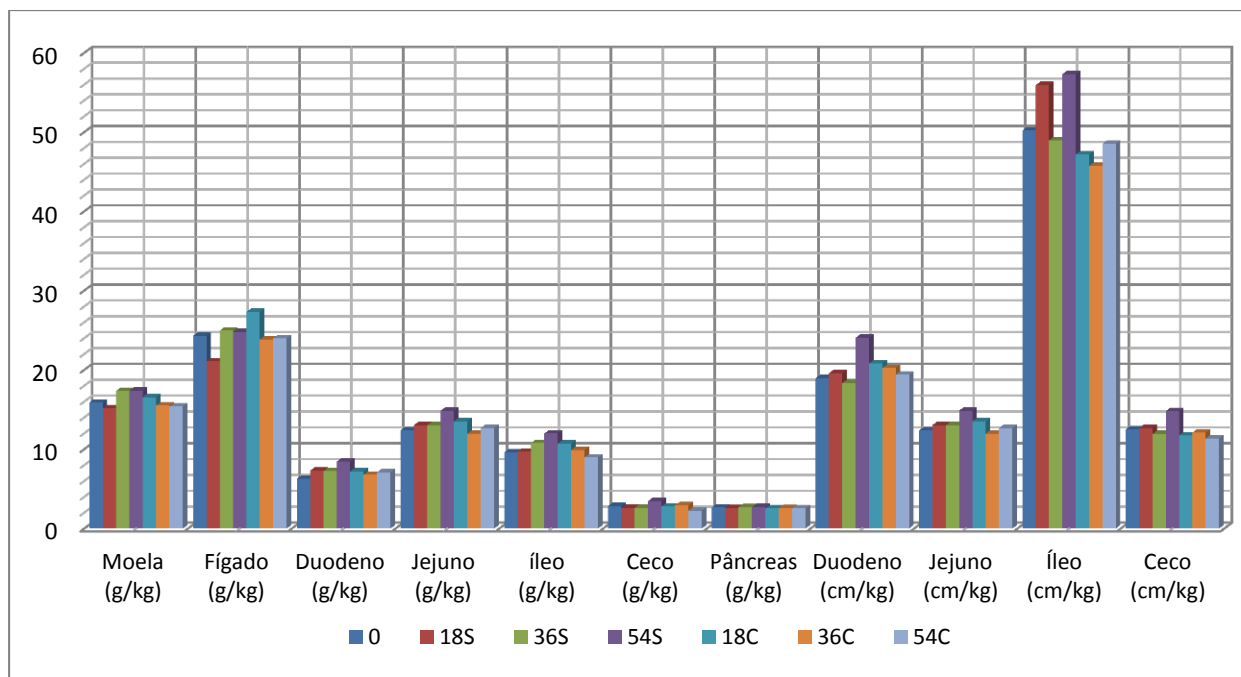


FIGURA 15. Efeito da aplicação de cevada e enzimas nas dietas destinadas aos frangos, nas dimensões dos órgãos do sistema digestivo

Aves alimentadas com uma dieta com um teor de cevada mais elevado e sem aplicação de enzimas (54S), foi na sua generalidade a que apresentou piores valores de performance (peso vivo, ingestão de alimento e índice de conversão), peso e comprimento relativo dos órgãos do sistema digestivo e de viscosidade intestinal. Foram realizadas análises para verificar a relação existente entre vários parâmetros já analisados individualmente.

A correlação entre a viscosidade *in vitro* e *in vivo* no duodeno+jejuno nas dietas sem aplicação de enzimas mostrou um coeficiente de determinação não muito forte entre as duas variáveis ($R^2 = 0,4887$, $P = 0,006$), na FIGURA 16 está representada a recta de ajustamento que elucida o referido anteriormente.

Na FIGURA 17 pode ver-se a mesma relação entre as duas variáveis anteriores, contudo esta corresponde à viscosidade *in vitro* dos alimentos com enzimas adicionadas e apresenta um coeficiente de determinação bastante baixo, $R^2 = 0,1685$.

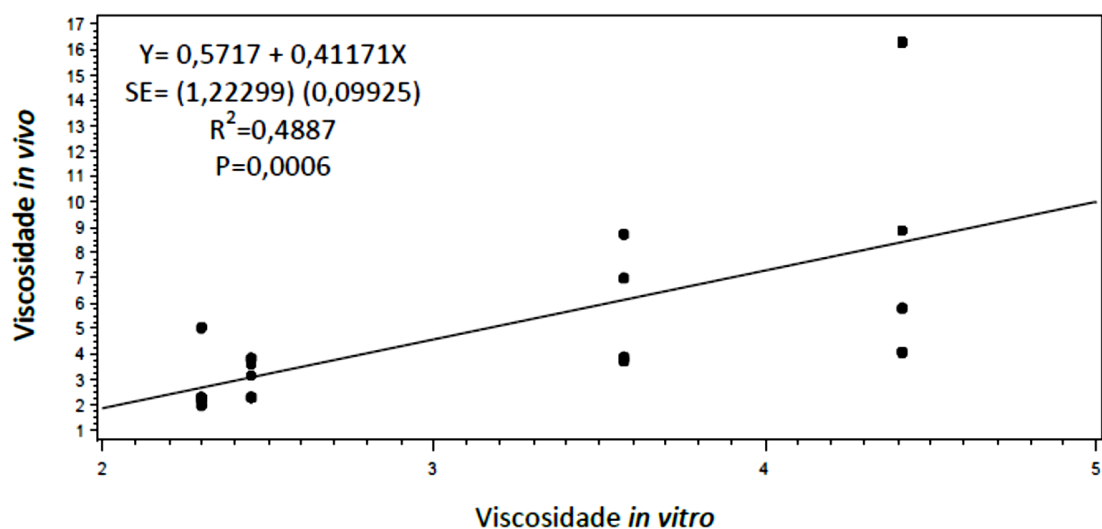


FIGURA 16. Relação entre a viscosidade *in vitro* e a viscosidade *in vivo* medida nas porções conjuntas duodeno+jejuno em frangos consumindo dietas sem enzimas

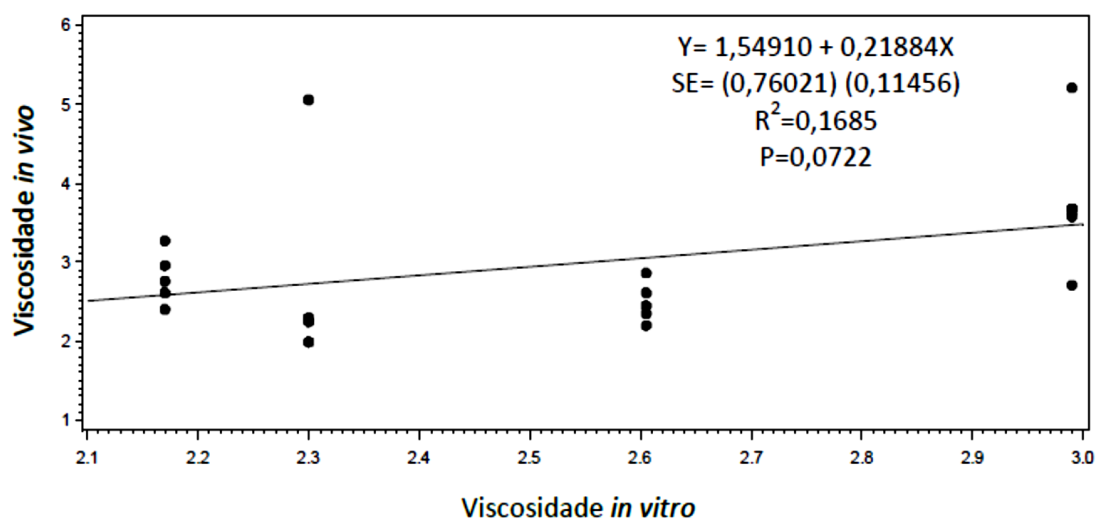


FIGURA 17. Relação entre a viscosidade *in vitro* e a viscosidade *in vivo* medida nas porções conjuntas duodeno+jejuno em frangos consumindo de dietas com enzimas

A FIGURA 18, por outro lado, mostra a relação existente entre os dois parâmetros descritos imediatamente antes, mas para a última porção do intestino delgado, o íleo, sem utilização de enzimas nas dietas. Neste também se pode observar uma tendência de aumento da viscosidade *in vivo* com o aumento da viscosidade *in vitro*. Contudo, pelo valor do coeficiente de determinação baixo ($R^2=0,3530$), novamente se verifica uma fraca relação entre as duas variáveis em estudo.

Foi realizada a mesma análise estatística para dietas com aplicação de enzimas e para a mesma porção do intestino delgado, mas nesta o valor de significância foi superior a 0,15; não

havendo por isso uma relação significativa entre as variáveis, apesar de existir uma tendência de aumento da viscosidade *in vivo* com o aumento da viscosidade *in vitro*, o que pode ser verificado na FIGURA 19.

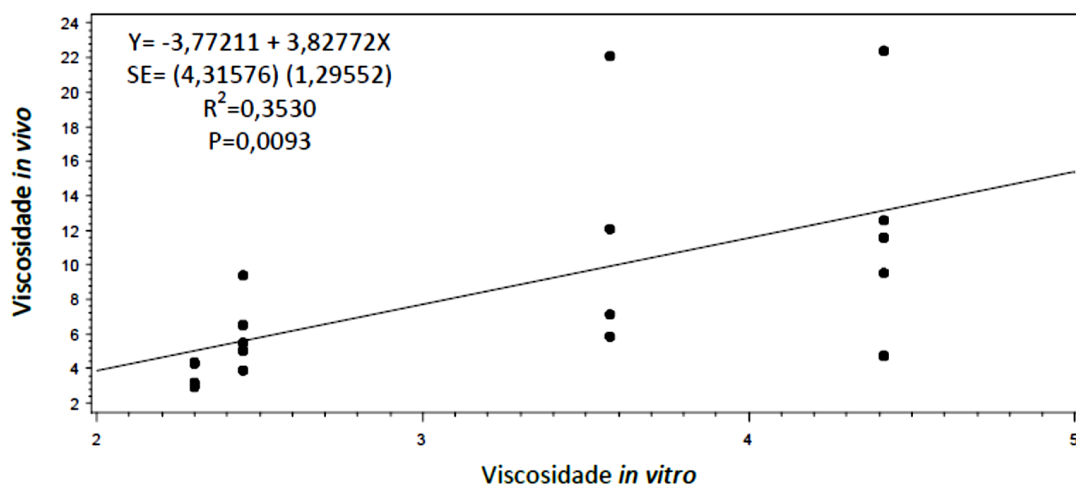


FIGURA 18. Relação entre a viscosidade *in vitro* e a viscosidade *in vivo* medida na porção íleo em frangos consumindo dietas sem enzimas

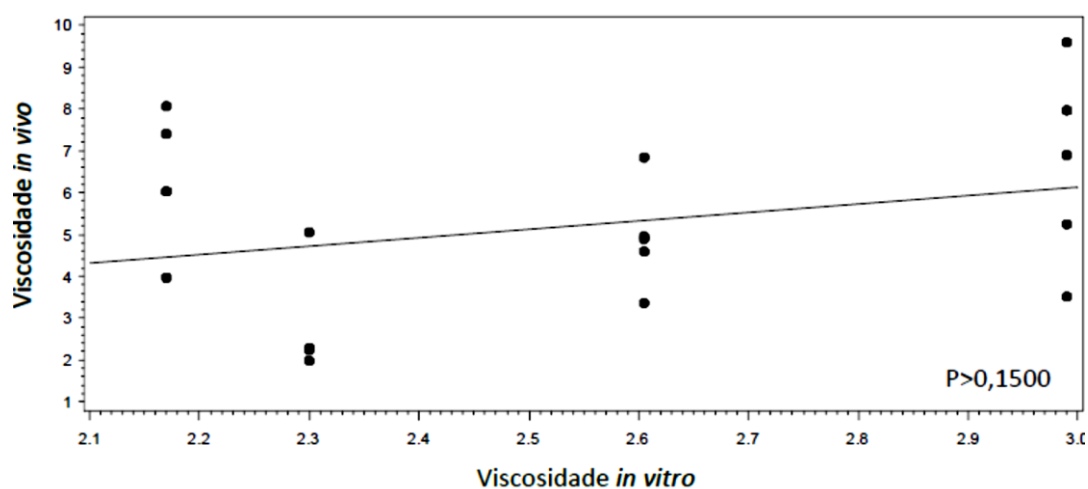


FIGURA 19. Relação entre a viscosidade *in vitro* e a viscosidade *in vivo* medida na porção íleo em frangos consumindo dietas com enzimas

Foram igualmente realizadas análises estatísticas considerando como variáveis o tratamento aplicado e a viscosidade *in vivo*. No entanto, os valores obtidos não corresponderam a uma correlação forte entre ambas uma vez que o valor de R^2 situou-se abaixo de 0,5 (FIGURA 20).

A mesma análise foi aplicada nos tratamentos com uso de enzimas. Na porção duodeno+jejuno (FIGURA 21) observa-se um coeficiente de determinação baixo ($R^2 = 0,2551$).

Comparando com o homólogo sem enzimas adicionadas, este mostrou um coeficiente de determinação mais baixo ($R^2=0,2551$).

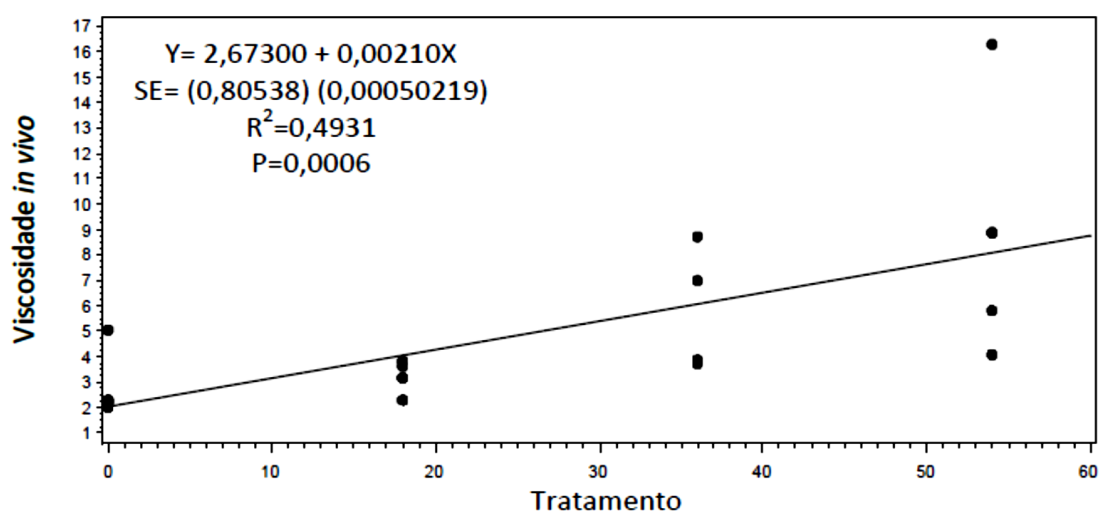


FIGURA 20. Relação entre as variáveis tratamento e a viscosidade *in vivo* nas porções duodeno+jejuno sem adição de enzimas

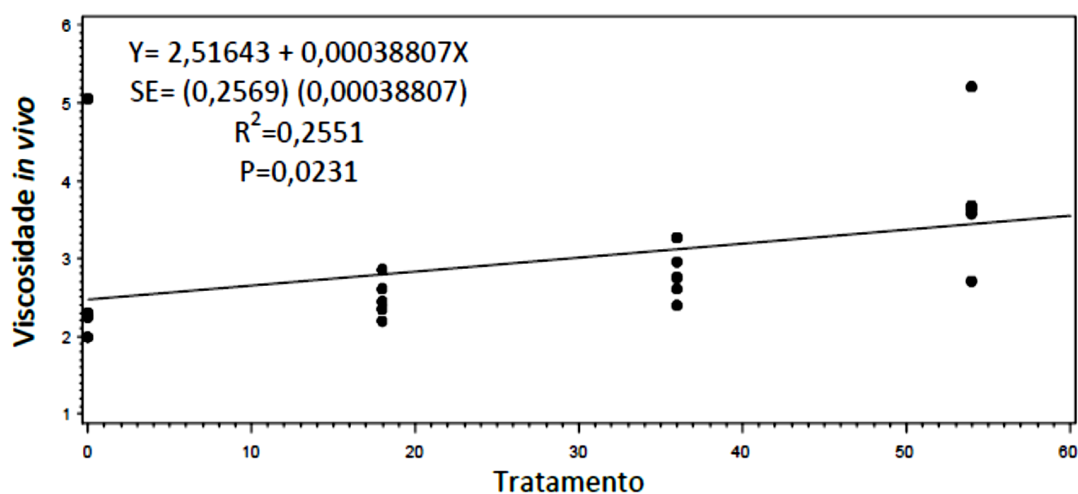


FIGURA 21. Relação entre as variáveis tratamento e a viscosidade *in vivo* nas porções duodeno+jejuno com adição de enzimas

A FIGURA 22 mostra a correlação existente entre a viscosidade *in vivo* no íleo e os tratamentos sem enzimas. Obteve-se uma curva de ajustamento global em crescimento, o que mostra uma tendência para o aumento da viscosidade quando aumenta o teor de cevada nas dietas sem utilização de enzimas, o valor para verificar a qualidade do ajustamento foi baixo ($R^2=0,3642$).

A viscosidade dos conteúdos ileais relacionada com os tratamentos com enzima (FIGURA 23), não mostrou novamente uma tendência forte ($R^2=0,3568$) para a existência de relação entre as duas variáveis testadas.

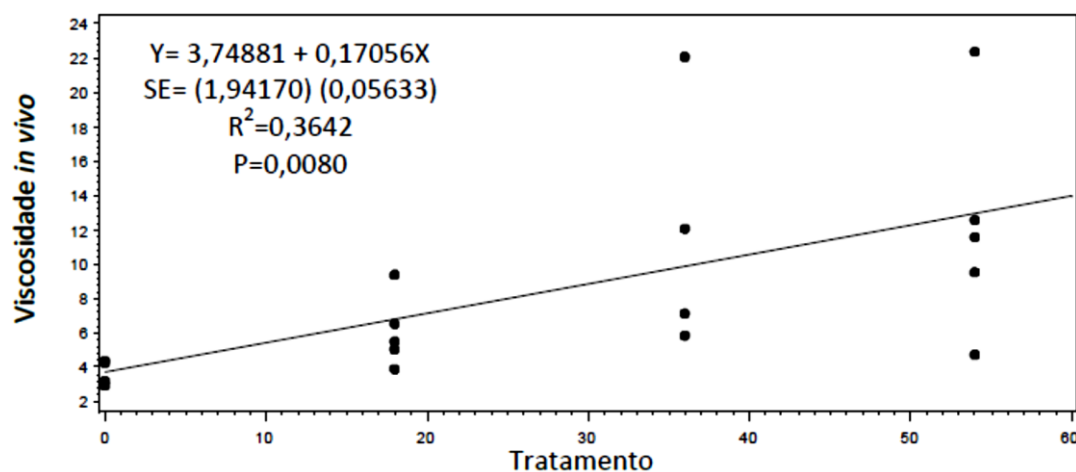


FIGURA 22. Relação entre as variáveis tratamento e a viscosidade *in vivo* na porção íleo sem adição de enzimas

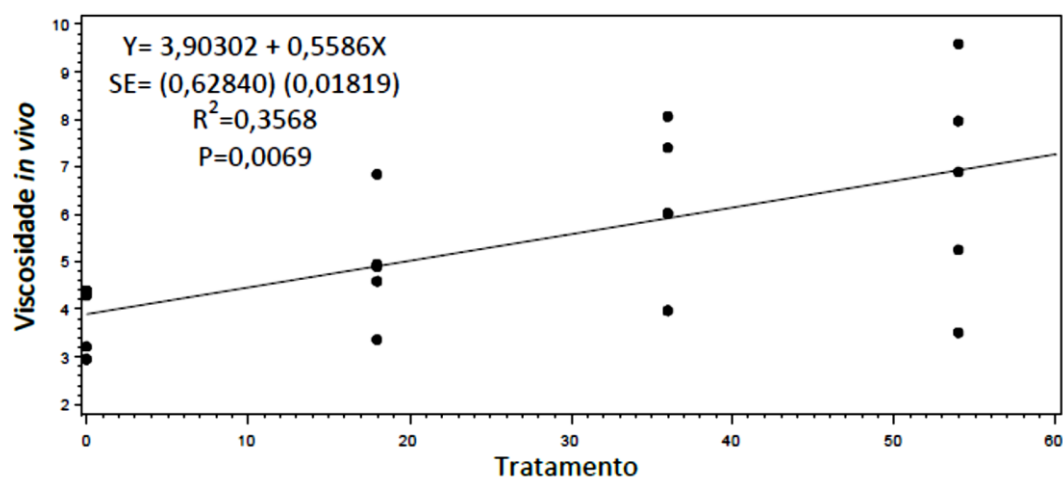


FIGURA 23. Relação entre as variáveis tratamento e a viscosidade *in vivo* na porção íleo com adição de enzimas

VI. DISCUSSÃO

Os dados deste estudo comprovam que a aplicação de cevada em percentagens variáveis nas dietas para frangos de carne têm efeitos negativos na viscosidade dos conteúdos intestinais, e nos parâmetros zootécnicos. Contudo, pode observar-se que a adição de complexos enzimáticos como o Rovabio™ Excel, poderá ser responsável pela atenuação dessas alterações, permitindo a utilização de cevada sem que haja efeitos negativos no desenvolvimento dos frangos e assim a utilização de ingredientes alternativos nas dietas, permitindo a diminuição da utilização de milho. A cevada desta forma tomar uma expressão maior nos alimentos para animais e por outro lado não haver uma dependência total da produção de milho e trigo por parte das indústrias de rações.

Fazendo-se uma análise particular a cada parâmetro, o peso vivo obtido decorridos 28 dias de ensaio, foi superior ao indicado pelo NRC (1994) de 1 085 g. No entanto observou-se um peso inferior a este nos animais alimentados com a dieta 54S. Contudo pelo *ROSS 308: BROILER PERFORMANCE OBJECTIVES* (2007), os valores obtidos no final do ensaio experimental, ficaram abaixo do referido pelo manual, que aos 28 dias é de 1 505 g. A diferença de pesos das duas publicações pode ser devida ao período que as distancia, o NRC sendo de 1994 não terá resultados tão actuais como o *ROSS 308: BROILER PERFORMANCE OBJECTIVES* publicado em 2007 onde são tidos em conta aspectos de avanços genéticos mais recentes. Outro dos factores que poderá estar na origem desta diferença será a generalidade com que o NRC trabalhou os seus dados, pois, poderá ter-se apoiado em diferentes estirpes e não numa estirpe isolada. As condições ambientais do presente ensaio experimental realizado não foram certamente as mesmas presentes para obtenção dos valores de referência, daí que a sua diferença não deva ser tida em conta de forma determinante.

A utilização de cevada na alimentação de frangos é premente para o aumento de viscosidade dos conteúdos digestivos e como tal pode afectar a performance das aves, o que pode ser observado pelo peso dos animais ao longo do ensaio (BEDFORD, 1996; BEDFORD & SHULZE, 1998; HSU & CHIOU, 1997). Nas dietas onde foi adicionado o complexo enzimático, os pesos vivos foram superiores quando comparados com os pesos de animais que não foram alimentados com enzimas adicionadas, este facto está de acordo com o referido por HESSELMAN & ÅMAN (1986) ao mostrarem que a aplicação de cevada e a falta de incorporação de enzimas nos alimentos, levavam a fraca digestibilidade e baixa absorção pelo impedimento da

digestibilidade dos grãos de amido na presença de β -glucanos da cevada, o que se repercute em pesos vivos baixos.

Relativamente à ingestão de alimento em todos os períodos de análise houve diferenças significativas entre o tratamento 54S e os restantes tratamentos, havendo neste tratamento valores de ingestão de alimento inferiores aos outros tratamentos, pois a presença de uma elevada percentagem de cevada e sem aplicação de enzimas, mais uma vez permitiu que houvesse uma menor ingestão por parte das aves que ingeriram esta dieta. Tal como refere BEDFORD *et al.* (1991) a matéria-prima utilizada no fabrico do alimento e a exposição ao stress ambiental poderão ser causadores de um aumento do tempo da digestão, sendo a cevada um ingrediente de difícil digestibilidade aumentou provavelmente o tempo de digestão das aves alimentadas com níveis de cevada acima dos 20% o qual é, percentagem de cevada na dieta tida como máxima para que não ocorram efeitos negativos em aves em fase de crescimento e acabamento sem utilização de enzimas (BRAKE *et al.*, 1997).

BEDFORD (1995) e CLASSEN (1985) referiram que a presença de celulose, arabinosilanos e β -glucanos, causam frequentemente depressão na taxa de crescimento e no IC, e que a utilização de enzimas é um factor que melhora o IC. O IC total não foi significativamente diferente entre os vários tratamentos analisados nem em qualquer período específico do ensaio, excepto entre os 14-21 dias, em que o IC piorou no tratamento 54S em relação aos restantes tratamentos, devendo-se provavelmente, ao tipo de dieta que poderia originar um baixo metabolismo por parte das aves e por isso menor procura de alimento. LESSON & SUMMERS (2001) referiram que nas primeiras duas semanas de vida o sistema enzimático é menos eficiente por se tratar de aves jovens (0-14 dias), sendo por isso esta fase a mais importante para suplementação enzimática. Contrariamente aos autores anteriores, no ensaio realizado não foram encontradas diferenças significativas entre os diferentes tratamentos nas duas primeiras semanas, provavelmente porque os efeitos negativos provocados pela cevada não são imediatos, sendo por isso apenas detectados através do IC entre os 14 aos 21 dias, portanto, algum tempo após a ingestão de dietas com cevada e sem enzimas exógenas. Após o período mencionado, os autores LESSON & SUMMERS (2001) referem que a produção interna de enzimas aumenta, talvez seja essa a razão pela qual não são observadas diferenças significativas entre tratamentos na última semana de ensaio (21-28 dias).

Quanto á viscosidade dos conteúdos digestivos, esta foi medida em duas porções do intestino delgado, duodeno + jejuno e íleo. Tal como esperado e referido por vários autores (EDNEY *et al.*, 1992; BEDFORD, 1996; HSU & CHIOU, 1997), a adição de cevada e sem

suplementação enzimática aumenta a viscosidade e com diferenças significativas entre tratamentos. Tal como obtido nos resultados do ensaio experimental, parece existir uma relação directa entre a adição de cevada e a viscosidade dos conteúdos digestivos. Em tratamentos com aplicação de enzimas β -glucanase, a viscosidade diminuiu e também se verificou uma maior homogeneidade dos valores de viscosidade entre os vários tratamentos, havendo uma aproximação ao valor médio obtido na dieta de controlo. Portanto, poderá constatar-se que a utilização de complexos enzimáticos nas dietas com cevada diminui drasticamente a viscosidade dos conteúdos digestivos, equiparando-se a uma dieta com a utilização de milho como ingrediente principal, este resultado está de acordo com o referido por LEESSON *et al.* (2000).

Os valores de viscosidade obtidos ao nível do íleo foram superiores em todos os tratamentos, relativamente aos compartimentos intestinais referidos anteriormente. Os valores medidos nos compartimentos duodeno + jejuno são menores que os do íleo, provavelmente porque no duodeno existe alguma actividade enzimática endógena e por isso alguma degradação de β -glucanos, que mesmo assim é pouco eficiente e incapaz de impedir que não haja aumento da viscosidade, o que posteriormente impede a absorção de nutrientes pelo intestino. Outra das razões possíveis para o registo de menores valores nas duas primeiras porções do intestino delgado é a presença de água no conteúdo digestivo, suficiente para diminuir a viscosidade.

O íleo mostrou valores superiores de viscosidade relativamente ao duodeno+jejuno, provavelmente pela sua composição e funcionamento. Nesta porção o nível de enzimas endógenas e secreções que contribuem na digestão são raras ou inexistentes por se tratar da última porção do intestino delgado e onde ocorre o final da digestão das aves (CARRÉ, 1992; SMITS & ANISSON, 1996; MORAN, 2006; DIBNER & RICHARDS, 2004), portanto quando não houve uma degradação eficaz dos β -glucanos nas duas primeiras porções do intestino delgado, neste local dificilmente serão destruídos, permitindo um aumento de viscosidade e com a probabilidade de ocorrerem colonizações bacterianas indesejáveis, tal como é dito por WALDENSTEDT *et al.* (2000).

Nos tratamentos onde houve a introdução de enzimas exógenas, verificou-se uma aproximada homogeneidade entre tratamentos, apesar de se poder observar também um aumento de viscosidade com o aumento de inclusão de cevada, como foi demonstrado por BEDFORD (1996).

Quando os níveis de viscosidade aumentam, pode haver um aumento relativo do peso e tamanho de alguns órgãos constituintes do sistema digestivo de forma a conseguirem absorver

maior quantidade de nutrientes para assim colmatar as necessidades nutricionais (IJL *et al.* 2001; YASAR & FORBES, 1999)

De entre todos os órgãos pesados, o fígado foi aquele que apresentou peso relativo superior. Sabendo-se que este órgão é responsável pelo metabolismo de gorduras e açúcares, o seu maior peso relativo em dietas com cevada e sem enzimas exógenas (excepto 18S) relativamente aos outros tratamentos com cevada e com enzimas pode dever-se à necessidade de melhoria na eficiência e eficácia de metabolizar nutrientes provenientes nas dietas. Contudo os seus valores variáveis não foram conclusivos, não estando particularmente de acordo com o observado por BRENES *et al.* (1993) e MARQUARDT *et al.* (1996) ao afirmarem que com o aumento de viscosidade ocorreria um aumento do peso do fígado em relação a uma dieta controlo (sem cevada). No presente ensaio, o duodeno foi significativamente superior em tamanho no tratamento 54S, o que permite novamente reforçar a ideia da adaptação do animal perante o aumento de viscosidade de modo a conseguir absorver nutrientes necessários ao seu metabolismo.

O comprimento do jejuno, não revelou diferenças significativas entre os tratamentos.

Não ocorreram diferenças significativas entre tratamentos no peso dos vários órgãos analisados, excepto o íleo, que apresentou diferenças tendencialmente significativas. Os dados obtidos para esta porção do intestino delgado são um pouco heterogéneos mas evidenciando-se uma diminuição do comprimento do íleo nos tratamentos em que foi aplicado complexo enzimático. Comparativamente, foi o seu comprimento o mais destacado, provavelmente porque nele a presença de enzimas e vilosidades intestinais é baixa, por isso nesta etapa do percurso alimentar ocorre uma maior necessidade de adaptação do sistema gastrointestinal do animal, através do aumento da superfície de absorção, o que corresponderá a um aumento de peso e tamanho. Os resultados obtidos para o duodeno e íleo estão de acordo com IJL *et al.* (2001) e JONHSON *et al.* (1984) ao demonstrarem que com o aumento de PNA na dieta, ocorre um aumento dos compartimentos intestinais.

A inclusão de enzimas nas dietas levou a que os valores de peso e comprimentos das porções intestinais entre tratamentos fossem equilibrados e com poucas diferenças entre si, mostrando mais uma vez diminuição da dimensão dos órgãos do aparelho digestivo e aumento das capacidades digestivas dos animais com a aplicação de complexos enzimáticos nas rações (BRENES *et al.*, 1993). Torna-se importante referir que quando há um aumento relativo do peso e tamanho dos órgãos em comparação com uma dieta controlo, o rendimento em carcaça diminui.

Pelas análises de correlação entre algumas variáveis (viscosidade *in vitro*, *in vivo* e tratamentos utilizados) consideradas importantes para este estudo, os valores de coeficiente de determinação não foram determinantes para se afirmar uma relação evidente entre elas.

A hipótese de prever os resultados da viscosidade *in vivo* a partir da viscosidade *in vitro*, foi uma das razões para se avançar com o presente estudo. BEDFORD & CLASSEN (1993) num estudo utilizando trigo e xilanases, referiram que a partir da viscosidade *in vitro* é possível prever razoavelmente bem a viscosidade *in vivo* no duodeno ($R^2=0,76$, $P<0,001$) e no jejuno ($R^2=0,66$, $P<0,001$). Estes resultados não estão em parte de acordo com o encontrado neste estudo, uma vez que se obteve valores de R^2 abaixo de 50%. A não existência de uma correlação forte entre os valores da viscosidade *in vivo* com a viscosidade *in vitro* na porção duodeno+jejuno com utilização de enzimas nas dietas poderá ser resultado da maior homogeneidade entre os valores e também ser um efeito positivo da acção enzimática sobre os β -glucanos, uma vez que os valores de viscosidade diminuem sendo este efeito previsto noutros ensaios experimentais realizados por MURPHY *et al.* (2009). Uma vez que o valor de R^2 obtido é baixo, pouco se pode concluir relativamente a relação existente entre a viscosidade *in vivo* e a *in vitro* com ou sem utilização de enzimas no duodeno+jejuno.

Também o valor de correlação entre a viscosidade *in vivo* e a *in vitro* na porção íleo, o R^2 foi baixo, não sendo suficientemente forte para se poder afirmar que com o aumento da viscosidade *in vitro* aumenta a viscosidade *in vivo*. Isto pode ser devido ao facto do número de réplicas para medição da viscosidade deverá ser cerca de 12-16 para que os resultados sejam razoavelmente satisfatórios para se estudar a viscosidade (BEDFORD & SHULZE, 1998). Outro facto é, a presença de *outliers* dentro dos vários tratamentos, fazendo com que os valores de co-variância, das variâncias e das médias sejam alteradas pela sua sensibilidade a observações estranhas. Quando existem observações estranhas, os valores de SQRE (medida da variabilidade associada aos resíduos) aumentam, diminuindo por isso o valor de R^2 que é um valor de referência para se apurar se há ou não um bom ajustamento dos pontos à recta.

O mesmo método de análise foi aplicado para as mesmas variáveis, a diferir o tipo de tratamentos (com complexo enzimático). Nestes, os resultados do coeficiente de correlação foi mais baixo comparativamente com os de tratamentos sem complexo enzimático e as diferenças entre valores não foi significativa, o que pode ser explicado pela presença de enzimas que são responsáveis pelo aumento de homogeneidade entre os valores de viscosidade mesmo com níveis de cevada superiores e que consequentemente cria homogeneidade entre os animais, este efeito é previsto pelo manual da ROVABIO™ Excel (2003) e é reforçado por FISCHER (2001).

Observou-se na generalidade dos gráficos de correlação entre a viscosidade *in vivo* e *in vitro* (ver FIGURA 20, 21, 22 e 23) que existe uma tendência para o aumento de viscosidade *in vivo* quando aumenta a viscosidade *in vitro*, sendo este um factor importante para se poder prever a viscosidade *in vivo*.

A possibilidade de existência de uma forte relação entre o tratamento utilizado e a viscosidade intestinal (*in vivo*) não se verificou. Muitos autores referem que com o aumento de cevada nas rações, paralelamente ocorre um aumento de viscosidade *in vivo* devido ao aumento de β -glucanos (FISCHER,2001; BEDFORD & SHULZE, 1998; BEDFORD *et al.*,1991; HESSELMAN & ÅMAN, 1986). Esse facto foi comprovado pela análise de variância (ANOVA), contudo na análise de correlação, esse resultado foi mais difícil de comprovar provavelmente devido à presença de observações estranhas que influenciam substancialmente os bom ajustamento dos pontos à recta ou devido ao baixo número de réplicas usado. Por vezes é possível retirar-se observações estranhas quando o seu valor de *p-value* não é significativo, no entanto neste caso não foi possível porque o número de amostragem eram apenas 5 por tratamento.

Verificou-se na sua generalidade que a viscosidade *in vivo* foi superior à *in vitro* e também que o aumento da quantidade de cevada nas dietas correspondia a um aumento da viscosidade *in vivo* e *in vitro*. Foi mostrado por McCracken & Bedford (2001) que a viscosidade *in vivo* é menor que a viscosidade *in vitro* dependendo da composição da dieta, mas também do complexo enzimático nas dietas que pode ser afectado pela sua ligação aos componentes dos alimentos ou pela sua inibição devido a inibidores indesejados, comprometendo a obtenção de valores consistentes da viscosidade da ração.

VII. CONCLUSÃO

No presente estudo foi possível comprovar que a aplicação de um complexo enzimático nos tratamentos melhorou os parâmetros zootécnicos analisados (Peso Vivo, Ingestão de Alimento e Índice de Conversão) e a viscosidade dos conteúdos dos compartimentos intestinais. O fabrico de alimentos para aves com utilização de cevada não são de todo postas de parte, pois a utilização de enzimas capazes de degradar os β -glucanos são uma solução realista permitindo um melhor aproveitamento de ingredientes que à partida pareciam não ser adequados e serem causadores de problemas nos frangos.

Sob as condições do presente estudo, pode dizer-se que a viscosidade *in vitro* pode ter alguma utilidade para predizer a viscosidade *in vivo*, pois verificou-se pela análise de correlação que existe uma tendência de relação entre as duas variáveis. Com recurso a outras metodologias de ensaio para essa previsão, talvez fossem obtidos resultados mais consistentes, nomeadamente sugere-se a utilização de um maior número de aves num ensaio com maior tempo de duração e consequentemente maior número de réplicas.

No entanto para se conhecer os verdadeiros benefícios da utilização de cevada nas dietas e de β -glucanase sugere-se também um estudo não só dos seus efeitos nas aves mas também dos custos económicos que do seu uso advém para as indústrias de produção de alimentos para animais.

VIII. BIBLIOGRAFIA E REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERAH, A. M., RAVINDRAN, V., LENTLE, R. G., THOMAS, D. G., 2008; Influence of feed particle size on the performance, and digesta parameters of broiler starters fed wheat and corn based diets; Poultry Science 87: 2320-2328

AVIAGEN, 2009; Broiler: Management Manual

AVIAGEN, June 2007; Ross 308: Broiler Performance Objectives

AVIAGEN, June 2007; Ross 308: Nutrition Specification

BEDFORD, M.R., 1993; Mode of Action of Feed Enzymes; Journal of Applied Poultry Research 2: 85-92

BEDFORD, M. R., 1996; The effect of enzymes on digestion; Journal of Applied Poultry Research 5: 370-378

BEDFORD, M. R., 2000; Exogenous enzymes in monogastric nutrition-their current value and future benefits; Animal Feed Science and Technology 86: 1-13

BEDFORD, M. R., MORGAN A. J., 1996; The use of enzymes in poultry diets; World Poultry Science Journal, 52: 61-68

BEDFORD, M. R., SHULZE, H., 1998; Exogenous enzymes for pigs and poultry; Nutrition Research Reviews 11: 91-114

BEDFORD, M.R., CLASSEN, H.L., 1992; Reduction of intestinal viscosity through manipulation of dietary rye and pentosanase concentration is effected through changes in the carbohydrate composition of the intestinal aqueous phase and results in improved growth rate and feed conversion; Journal of Nutrition 122: 560-569

BRAKE, J. D., 1997; Barley without enzyme supplementation in broiler grower and finisher diets; Journal of Applied Poultry Research 6: 422-431

BRENES, A., SMITH, J., GUENTER, W., MARQUARDT, R. R., 1993; Effect of enzyme supplementation on the performance and digestive tract size of broiler chicks fed wheat and barley-based diets; Poultry Science 72: 1731-1739

CHAMPE, P. C., HARVEY, R. A., 1989; Bioquímica Ilustrada; São Paulo: Artes Médicas; pág. 355, Capítulo 5

CHEEKE, P. R., 1991; Applied Animal Nutrition – Feeds and Feeding; 1ª Edição, págs. 43-45

CHESSON, A., 1993; Feed enzymes; Animal Feed Science and Technology 45: 65-69

CHOCT, M., ANNISON, G., 1992; Anti-nutritive effect of wheat pentosans in broiler chickens: roles of viscosity and gut microflora; British Poultry Science 33: 821-834

CHOCT, M., 2006; Enzymes for the Feed Industry: Past, Present and Future; World's Poultry Science Journal, Vol. 62, Março

COOK, R. H., BIRD, F. H., 1973; Duodenal villus area and epithelial cellular migration in conventional and germ-free chicks; Poultry Science 52: 2276-2280

DIBNER, J. J., KNIGHT, C. D., KITCHELL, M. L., ATWELL, C. A., DOWNS, A. C., IVEY, F. J., 1998; Early feeding and development of the immune system in neonatal poultry; Journal of Applied Poultry Research 7: 425-523

DIBNER, J. J., RICHARDS, J. D., 2004; The digestive system: Challenges and opportunities; Journal of Applied Poultry Research 13: 86-93

EDNEY, M. J., CAMPBELL, G. L., CLASSEN, H. L., 1989; The effect of β -glucanase supplementation on nutrient digestibility and growth in broilers given diets containing barley, oat groats or wheat; Animal Feed Science and Technology 25: 193-200

FERNANDEZ, F., SHARMA, R., HINTON, M., BEDFORD, M. R., 2000; Diet influences the colonisation of *Campylobacter jejuni* and distribution of mucin carbohydrates in the chick intestinal tract; Cellular and Molecular Life Sciences 57: 1793-1801

FICHER, G., 2001; Desempenho de Frangos de Corte, alimentados com dietas à base de milho e farelo de soja, com ou sem adição de enzimas; Dissertação do Mestrado em Zootecnia, Universidade Federal de Pelotas

GABINETE DE PLANEAMENTO E POLÍTICAS, 2006; Anuário Vegetal; Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas

GABINETE DE PLANEAMENTO E POLÍTICAS, 2007; Culturas Arvenses-Diagnóstico Sectorial; Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas

GIRHAMMAR, U., NAIR B. M., 1992; Certain physical properties of water soluble non-starch polysaccharides from wheat, rye, triticale, barley and oats; Food Hydrocolloids 6: 329-343

HESELMAN, K., ÅMAN P., 1986; The effect of β -glucanase on the utilization of starch and nitrogen by broiler chickens fed on barley of low or high viscosity; Animal Feed Science and Technology 15: 83-93

HOLTEKJØLEN, A.K., UHLEN, A.K., BRÅTHEN, E., SAHLSTRØM, S., KNUTSEN, S.H., 2006; Contents of starch and non-starch polysaccharides in barley varieties of different origin; Food Chemistry 94: 348-358

IJI, P. A., SAKI, A. A., TIVEY, D. R., 2001; Body and Intestinal Growth of broiler chicks on a commercial started diet. 1. Intestinal weight and mucosal development; British Poultry Science 42: 505-513

IJI, P. A., SAKI, A. A., TIVEY, D. R., 2001; Intestinal development and body growth of broiler chicks on diets supplemented with non-starch polysaccharides; Animal Feed Science and Technology 89: 175-188

IKEGAMI, S., TSUCHIHASHI, F., HARADA, H., TSUCHIHASHI, N., NISHIDE, E., INNAMI, S., 1990; Effect of viscous indigestible polysaccharides on pancreatic-biliary secretion and digestive organs in rats; Journal of Nutrition 120: 353-360

JAMROZ, D., JAKOBSEN, K., BACH KNUDSEN, K.E., WILCZKIEWICZ, A., ORDA, J., 2002; Digestibility and Energy Value of the Non-Starch Polysaccharides in Young Chickens, Ducks and Geese, Fed Diets Containing High Amounts Of Barley, Comparative Biochemistry and Physiology 131: 657-668.

JAYNE-WILLIAMS, D. J., FULLER R., 1971; The influence of the intestinal microflora on nutrition; in Physiology and Biochemistry of the Domestic Fowl, págs. 73-87; Academic Press, New York

JOHANSEN, H. N., WOOD, P. J., BACH, K. K. E., 1993; Molecular weight changes in the (1-3) (1-4) β -D-glucan of oats incurred by the digestive processes in the upper gastrointestinal tract of pigs; Journal of Agricultural and Food Chemistry 41: 2347-2352

- JONHSON, I. T., GEE, J. M., MAHONEY, R. R., 1984; Effect on dietary supplements of guar gum and cellulose on intestinal cell proliferation, enzyme levels and sugar transport in the rat; British Journal of Nutrition 52: 477-487
- KAHN, A., VOHRA, P. N., KRATZER, F. H., 1989; The effect of protein level and dietary guar gum and pectin on copper and zinc utilization in chicks; Nutrition Reports International 36: 193-200
- LANGHOUT, D. J., SCUTTE, J., SLOETJES, H., VERSTEGEN A., TAMMINGA, M. W. A., 2000; Effect of viscosity on digestion of nutrients in conventional and germ-free chicks; British Journal of Nutrition 83: 533-540
- LESSON, S., CASTON, L., 2000; Commercial enzymes and their influence on broilers fed wheat or barley; Journal of Applied Poultry Research 9: 242-251
- LESSON, S., SUMMERS, J. D., 2001; Scott's: Nutrition of the Chicken; 4th Edition, University Books; Guelph-Ontario
- MALTIBÉRIA, Novembro 2009; Manual de Boas Práticas Agrícolas: Cultura de cevada dística para malte
- MARQUARDT, R. R., BRENES, A., ZHANG, Z., BOROS, D., 1996; Use of enzymes to improve nutrient availability in poultry feedstuffs; Animal Feed Science Technology 60: 321-330
- McDONALD, P., EDWARDS, R. A., GREENHALGH, J. F. D., MORGAN, C. A., 2002; Animal Nutrition – 6th Edition, Longman
- McNAB, J. M., SMITHARD, R. R., 1992; Barley β -glucan: An antinutritional factor in poultry feeding; Nutrition Research Reviews 5: 45-60
- MEYER, J. H., GU, Y. G., JENH, D., TAYLOR, I. L., 1998; Intragastric vs intrainestinal viscous polymers and glucose tolerance after liquid meals of glucose; American Journal of Clinical Nutrition 48: 260-266
- MOHANNA, C., CARRÉ, B., NYS, Y., 1999; Incidence of dietary viscosity on growth performance and zinc and manganese bioavailability in broilers; Animal Feed Science and Technology 77: 255-266
- MORAN Jr. E. T., 2006; Anatomy, Microbes and Fiber: Small Versus Large Intestine; Journal of Applied Poultry Research 15: 154-160

- MURPHY, T. C., McCracken, J. K., McCann, M. E. E., George, J., Bedford, M. R., 2009; Broiler performance and in vivo viscosity as influenced by a range of xylanases, varying in ability to effect wheat in vitro viscosity; British Poultry Science 50: 6, 716-724
- NAHAS, J., LEFRANÇOIS, M. R., 2001; Effects of feeding locally grown whole barley with or without enzyme addition and whole wheat on broiler performance and carcass traits; Poultry Science 80: 195-202
- NOY, Y., SKLAN D., 1999; Different types of early feeding and performance in chicks and poults; Journal of Applied Poultry Research 8: 16-24
- OSCARSSON, M., ANDERSSON, R., SALOMONSSON, A. C., ÅMAN P., 1996; Chemical composition of barley samples focusing on dietary fibre components; Journal of Cereal Science 24: 161-170
- RIBEIRO, T., LORDELO, M. M. S., PONTE, P. I. P., MAÇÃS, B., PRATES, J. A. M., FONTES, M. A., FALCÃO, L., FREIRE, J. P. B., FERREIRA, L. M. A., FONTES, C. M. G. A., 2011; Levels of endogenous β -glucanase activity in barley affect the efficacy of exogenous enzymes used to supplement barley-based diets for poultry; Poultry Science 90:1245-1256
- ROVABIO™ Info, 2003; Rovabio™ the versatile enzyme; Nº1, Março
- SAKI, A. A., MIRZAYI, S., GHAZI, Sh., MOINI, M. M., HARSINI, R. N., HAGHIGHAT M., MAHDAVI, R., 2010; Effect of various level of treated barley on Small Intestinal Content Viscosity, Litter Moisture, Uric Acid and Broiler Chickens Performance; Journal of Animal and Veterinary Advances 9: 2627-2632
- SAS®, 2009; SAS User's Guide: Statistics; Version 9.2; SAS Institute. Inc., Cary, NC, USA
- SELL, J. L., 1996; Physiological limitations and potential for improvement in gastrointestinal tract function of poultry; Journal of Applied Poultry Research 5: 96-101
- SHARMA, R., FERNANDEZ, F., HINTON, M., SCHUMACHER U., 1997; The influence of diet on mucin carbohydrates in the chick intestinal tract; Cellular and Molecular Life Sciences 53: 935-942
- SMITS, C. H. M., ANNISON, G., 1996; Non-starch polysaccharides in broiler nutrition-towards and physiologically valid approach to their determination; World Poultry Science Journal 52: 203-221

- STEENFELDT, S., 2001; The Dietary Effect of Different Wheat Cultivars for Broiler Chickens, British Poultry Science 42: 595-609
- STEENFELDT, S., MÜLLERTZ, A., JENSEN, J. F., 1998; Enzyme supplementation of wheat based diets for broilers: 1. Effect on growth performance and intestinal viscosity; Animal Feed Science and Technology 75: 27-43
- TEIXEIRA, O. P. B., CINDRA, J. L., MONTEIRO, M. A. A., AMARANTE, A. R. S., [s.d.]; Mecânica de Flúidos: Algumas considerações sobre viscosidade; XVI Simpósio Nacional de Ensino de Física
- TOVAR, J., FRANCISCO, A., BJORK, I., ASP, N., 1991; Relationship between microstructure and in vitro digestibility of starch in pre-cooked leguminous seed flours; Food Structure 10: 19-26
- VAN DER KLIS, J. D., VERSTEGEN, M. W. A., VAN VOORST, A., 1993; Effect of a soluble polysaccharide (carboxymethylcellulose) on the absorption of minerals from the gastrointestinal tract of broilers; British Poultry Science 34: 985-997
- WALDENSTEDT, L., ELWINGER, A., LUNDEN, A., THEBO, P., BEDFORD, M. R., UGGLA, A., 2000; Intestinal digesta viscosity decreases during coccidial infection in broilers; British Poultry Science 34: 459-464
- WINDHORST, H. W., 2006; Changes in poultry production and trade worldwide; World's Poultry Science Journal 62: 585-602
- WINDHORST, H. W., 2011; Patterns and dynamics of global and EU poultry meat production and trade; Lohmann Information 46: 28-37
- YASSAR S., FORBES, J.M., 1999; Performance and Gastrointestinal Response of Broiler Chickens Fed on Cereal Grain-Based Foods Soaked in Water; British Poultry Science 40: 65-76
- YEGANI, M., KORVER, D. R., 2008; Factors affecting intestinal health in poultry; Poultry Science 87: 2052-2063
- YU, B., HSU, J. C., CHIOU, P. W. S., 1998; Effects of β -glucanase supplementation of barley diets on growth performance of broilers; Animal Feed Science Technology 70: 353-361

WIKIPÉDIA:

www.en.wikipedia.org/wiki/File:BarleyEars.JPG (pesquisa a 27/5/2011)

ENGORMIX:

www.engormix.com (pesquisa a 01/06/2011)

FAOSTAT:

www.faostat.fao.org (pesquisa a 2/6/2011)

GALLANT'S BIOLOGY STUFF:

www.kvhs.nbed.nb.ca/gallant/biology/biology.html (pesquisa a 6/6/2011)

NATIONAL CENTRE FOR BIOTECHNOLOGY EDUCATION:

www.ncbe.reading.ac.uk/ncbe/materials/enzymes/viscozyme.html (pesquisa a 6/6/2011)

QUEENSLAND GOVERNMENT-PRIMARY INDUSTRIES AND FISHERIES:

www.dpi.qld.gov.au/27_2705.htm (pesquisa a 6/6/2011)

BROOKFIELD ENGINEERING:

www.brookfieldengineering.com (pesquisa a 28/6/2011)